

**OPTIMALE KONZENTRATION VON  
FERRIHÄMOGLOBIN ZUR BEHANDLUNG  
DER BLAUSÄUREVERGIFTUNG**

Wiltrut Lörcher

1973









Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Vorstand: Professor Dr. M. Kiese

Über das Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie  
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Komm. Vorstand: Professor Dr. J. Kalich

OPTIMALE KONZENTRATION VON FERRIHÄMOGLOBIN  
ZUR BEHANDLUNG DER BLAUSÄUREVERGIFTUNG

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde der  
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität  
München

von

Wiltrut Lörcher

aus

Böblingen

München 1973



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen  
Fakultät der Universität München

Dekan: Prof. Dr. E. Dahme

Referent: Priv.-Doz. Dr. N. Weger

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. E. Scharrer

Tag der Promotion: 27. Juli 1973

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK oHG  
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 0 9 0 9 0

# INHALTSVERZEICHNIS

|                                                                       | Seite |
|-----------------------------------------------------------------------|-------|
| I. EINLEITUNG                                                         | 1     |
| II. LITERATUR                                                         | 3     |
| 1. Toxikologie der Blausäure                                          | 3     |
| 1.1. Chemisch-physikalische Eigenschaften                             | 3     |
| 1.2. Vorkommen und Verwendung                                         | 3     |
| 1.3. Vergiftungsmöglichkeiten                                         | 4     |
| 1.4. Toxizität                                                        | 5     |
| 1.5. Stoffwechsel                                                     | 7     |
| 1.6. Wirkungsmechanismus                                              | 7     |
| 1.7. Vergiftungssymptome                                              | 9     |
| 1.8. Pathologisch anatomisches Vergiftungsbild                        | 9     |
| 1.9. Therapie der Blausäurevergiftung                                 | 10    |
| 2. Pharmakologie und Toxikologie des 4-Dimethylaminophenols           | 14    |
| 2.1. Chemisch-physikalische Eigenschaften                             | 14    |
| 2.2. Toxizität                                                        | 14    |
| 2.3. Stoffwechsel                                                     | 15    |
| 2.4. Wirkungsmechanismus                                              | 16    |
| 2.5. Weitere Eigenschaften des 4-Dimethylaminophenols                 | 16    |
| III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN                                            | 17    |
| 1. Material und Methodik                                              | 18    |
| 1.1. Reagentien                                                       | 18    |
| 1.2. Versuchstiere                                                    | 18    |
| 1.3. Vergiftung der Versuchstiere                                     | 19    |
| 1.4. Verabreichung des Antidots                                       | 19    |
| 1.5. Blutentnahme                                                     | 19    |
| 1.6. Bestimmung des Gesamthämoglobins                                 | 20    |
| 1.7. Bestimmung des noch frei im Blut vorhandenen<br>Ferrihämoglobins | 21    |

|          | Seite                                                                                  |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| 1.8.     | Bestimmung des im Blut noch vorhandenen Ferrohämoglobins 23                            |
| 1.9.     | Berechnung des Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplexes 25                                     |
| 1.10.    | Fehlerberechnung 25                                                                    |
| 2.       | Ergebnisse 28                                                                          |
| 2.1.     | Ferrihämoglobinbildung durch 4-Dimethylamino-phenol : 28                               |
| 2.1.1.   | Kinetik der Ferrihämoglobinbildung 28                                                  |
| 2.1.2.   | Symptome 29                                                                            |
| 2.1.3.   | Dosis-Wirkungsabhängigkeit der Ferrihämoglobinbildung durch 4-Dimethylaminophenol 29   |
| 2.2.     | Beeinflussung der Blausäurevergiftung durch 4-Dimethylaminophenol 33                   |
| 2.2.1.   | Überlebensrate 34                                                                      |
| 2.2.2.   | Symptome 36                                                                            |
| 2.2.3.   | Ferrohämoglobin-, Ferrihämoglobin- und Ferrihämoglobin-Cyanid-Anteil des Blutes 40     |
| 2.2.3.1. | Versuchsanordnung I 40                                                                 |
| 2.2.3.2. | Versuchsanordnung II 48                                                                |
| 2.2.3.3. | Versuchsanordnung III 59                                                               |
| 2.2.3.4. | Versuchsanordnung IV 69                                                                |
| 2.2.4.   | Maximale Cyanidbindung bei überlebenden und gestorbenen Versuchstieren 78              |
| 3.       | Gesamtauswertung 82                                                                    |
| 3.1.     | Symptome 83                                                                            |
| 3.2.     | Ferrohämoglobin-, Ferrihämoglobin- und Ferrihämoglobin-Cyanid 84                       |
| 3.3.     | Maximale Cyanidbindung 88                                                              |
| 3.4.     | Vergleich zwischen Ferrohämoglobin und Ferrihämoglobin und den Entgiftungssymptomen 94 |



|                          | Seite |
|--------------------------|-------|
| IV. DISKUSSION           | 95    |
| V. ZUSAMMENFASSUNG       | 104   |
| SUMMARY                  | 106   |
| VI. LITERATURVERZEICHNIS | 108   |
| LEBENS LAUF              | 125   |



## I. EINLEITUNG

Vergiftungen mit Blausäure sind schon aus der Antike bekannt. Beispielsweise wurden im alten Ägypten Personen, die die Mysterien der Isis enthüllt hatten, durch Aufgüsse von blausäurehaltigen Pfirsichkernen vergiftet (64).

Da die Blausäurevergiftung äußerst schnell zum Tode führt, ist die Möglichkeit einer Therapie sehr eingeschränkt.

Bei einer akuten Vergiftung ist ein Überleben nur durch sofortiges Verabreichen des Antidots gewährleistet. Dies ist bei Unglücksfällen am Arbeitsplatz, wo mit Vergiftungen dieser Art gerechnet wird und daher von vornherein ein Antidot bereitgestellt ist, möglich.

Eine echte Therapiemöglichkeit besteht bei den protrahierten Vergiftungen mit Blausäure, oder nach dessen Aufnahme subletaler Dosen. Vergiftungsformen dieser Art kommen beim Menschen selten, am ehesten noch nach häufiger Aufnahme süßer Cassava (72, 73, 82) oder bitterer Mandeln (105), vor. Bei Weidetieren dagegen werden öfters Fälle einer protrahierten Blausäurevergiftung beobachtet (10, 17, 19, 34, 69, 86, 89, 104). Diese wird in den meisten Fällen durch Aufnahme blausäureglykosidhaltiger Pflanzen (86, 89), welche die Blausäureglykoside aus Aminosäuren synthetisieren (106), verursacht.

Schon 1895 entdeckte S. LANG (63), daß bei blausäurevergifteten Hunden Rhodan im Harn auftritt. Rhodan ist ein Stoffwechselprodukt, das der Organismus fermentativ aus Schwefel und Cyanid bildet (90, 97). Diesen natürlichen Entgiftungsvorgang versuchte LANG (63) durch Zufuhr schwefelhaltiger Substanzen zu aktivieren.

Um die gleiche Zeit wurden Kobaltverbindungen als Blausäureantidot entdeckt (39, 67). Kobalt reagiert im Blutplasma sofort mit dem Cyanid unter Bildung eines gut löslichen Kobaltcyanidkomplexes (4).

Auch die dritte Therapiemöglichkeit wurde schon im Jahre 1891, von KOBERT (59) beschrieben. Er entdeckte bei Versuchen in vitro, daß Ferrihämoglobin mit Cyanid einen sehr festen Komplex bildet. SZIGETTI (102) untermauerte dessen Ergebnisse zwei Jahre später mit Versuchen in vivo.

Die Wirkung des Ferrihämoglobins als Antidot bei Blausäurevergiftungen beruht auf der höheren Affinität des Cyanidions zum Fe III des Ferrihämoglobins als zum Fe III der Cytochromoxidase (8, 11, 22, 90).

Nachdem HUG (40) als erster Natriumnitrit als Ferrihämoglobinbildner zur Therapie der Blausäurevergiftung bei Hunden untersucht hatte, wurde die Ferrihämoglobinbildung die bekannteste therapeutische Maßnahme bei Blausäurevergiftungen (114).

Da Nitrite eine starke Vasodilatation bewirken (13, 35, 53, 57, 71, 108), wurde nach geeigneteren Ferrihämoglobinbildnern gesucht. So untersuchten KIESE, WEGER et al. (49, 50, 51, 52, 53, 56, 57) unter anderem einige Aminophenole, wobei sich bisher 4-Dimethylaminophenol (4-DMAP) als der am besten verträgliche Ferrihämoglobinbildner herausstellte (53, 57, 111, 112, 113, 114).

4-Dimethylaminophenol wirkt nicht blutdrucksenkend, sondern bewirkt eher eine schnelle Zunahme der bereits verminderten Strömung in der A. carotis. Blutdruck, Atem- und Pulsfrequenz kehren im Laufe von 10 Minuten in den Bereich der Ausgangswerte zurück (71, 112, 113, 114). 4-Dimethylaminophenol erfüllt somit Voraussetzungen, die für ein zuverlässiges Blausäureantidot wichtig sind (57, 111, 112, 113, 114):

1. Schnelle Ferrihämoglobinbildung
2. Hohe Entgiftungskapazität
3. Geringe Eigentoxizität

Die Entgiftungskapazität hängt von der Ferrihämoglobinkonzentration ab. Eine Oxidation von 30 - 40% des Blutfarbstoffes zu Ferrihämoglobin führte weder im Tierversuch (54, 55, 112, 113, 114) noch bei der Anwendung am Menschen (57) außer einer Cyanose zur Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens.

Hohe Konzentrationen an Ferrihämoglobin töten das Versuchstier (9). Je höher jedoch die Ferrihämoglobinkonzentration ist, um so mehr Cyanid kann durch die molare Reaktion des Ferrihämoglobins mit dem Cyanid entgiftet werden.

In dieser Arbeit wird untersucht, welche Ferrihämoglobinkonzentrationen ein Hund zur Entgiftung maximaler Blausäuredosen noch toleriert.



## II. LITERATUR

### 1. Toxikologie der Blausäure

Die Blausäure wurde von SCHEELE im Jahre 1782 bei der Reaktion von Kaliumhexacyanoferrat (II) mit verdünnter Schwefelsäure entdeckt. Eingehende Untersuchungen über die neue Substanz führten dann BERTHOLLET (1787) und GAY-LUSSAC (1815) durch (70).

#### 1.1. Chemisch-physikalische Eigenschaften

Blausäure (HCN) ist eine farblose Flüssigkeit mit einem charakteristischen Geruch nach Bittermandelöl (70, 116), welcher jedoch von vielen Menschen nicht wahrgenommen werden kann (116).

Das Molekulargewicht der Blausäure beträgt 27,03, die Dichte bei flüssigem Zustand 0,687. Der Schmelzpunkt liegt bei  $-14^{\circ}\text{C}$ , der Siedepunkt bei  $26^{\circ}\text{C}$ . Das spezifische Gewicht wird mit 0,94 angegeben (70).

Blausäure liegt in wässriger Lösung weitgehend undissoziiert vor, ist also eine schwache Säure, die im übrigen mit Wasser und Äthanol gut mischbar ist (70). Die Säure bildet mit Metallen Salze (Cyanide). Bemerkenswert ist ihre hohe Affinität zu dreiwertigem, jedoch nicht zu zweiwertigem Eisen (1, 102).

Dargestellt wird Blausäure aus Methan und Ammoniak durch katalytische Oxidation (ANDRUSSOW-Verfahren) (70).

#### 1.2. Vorkommen und Verwendung

Blausäure und ihre Salze haben industrielle Bedeutung. Sie finden unter anderem Verwendung in der chemischen Industrie (31, 65, 68, 70, 116), in Galvanisierungsanstalten und in Schmelzereibetrieben (11, 12, 68, 81, 118).

Eine weitere Anwendung der Blausäure erfolgt im Rahmen des Vorratsschutzes zur Bekämpfung tierischer Schädlinge (11, 68, 70, 116).

Große praktische Bedeutung für die Landwirtschaft und die Tiermedizin hat das Vorkommen der Blausäure in Pflanzen (86, 89, 106). Solche Pflanzen sind unter anderem Johnsongras, Wiesenrispe, Sudangras, Pfeilgras, wolliges Honiggras, Quellgras, Binsen, Weißklee, Quecken, Ackerhahnenfuß, Wicken,

Klatschmohn, Holunder und Steinobstkerne (89). Blausäure wird hier aus Aminosäuren synthetisiert (106) und glykosidisch an Zucker gebunden, spielt also wahrscheinlich eine Rolle bei der Kohlenhydratspeicherung der Pflanze. Ein besonders hoher Gehalt an Blausäureglykosiden kommt in den Kernen und Blättern einiger Pruneen (Amygdalin, Prunalausin, Prunasin), in den Früchten und Kraut des *Phaseolus lunatus* (Phaseolunatin), im Samen von *Vicia angustifolia* (Vizyamin), in den Blättern des *Trifolium repens* (Lotaustralin), in den Blättern der *Achillea millefolium* (Achillein) und im Samen von *Linum usitatissimum* (Linamarin) (86, 89) vor. Der Blausäuregehalt solcher Pflanzen kann bis zu 1% betragen (89, 116).

Interessant ist auch die Cyanidsynthese bei Tieren, wie z.B. beim Erdläufer, um sich damit gegen Feinde wehren zu können (106).

### 1.3. Vergiftungsmöglichkeiten

Blausäurevergiftungen sind durch Inhalation von Blausäuredämpfen und durch orale Aufnahme der Säure bzw. ihrer Salze vorgekommen (10, 11, 26, 68, 116). So sind zum Beispiel Unglücksfälle aus der Landwirtschaft, nach Rauresinfektionen oder in Laboratorien durch unachtsames Hantieren mit cyanidhaltigen Substanzen bekannt (11, 81, 116). Besonders gefährdet sind die Beschäftigten in den oben genannten Betrieben (11, 12, 31, 65, 68, 81, 116, 118). MOESCHLIN berichtet, daß gerade in diesen Betrieben in den letzten Jahren die Cyanidvergiftungen zugenommen haben (68).

Eine neue Gefahrenquelle bedeutet das unsachgemäße Ablagern von cyanidhaltigem Industriemüll oder das Verbrennen von Kunststoffen, z.B. Polyacrylnitrilen (Hostalen<sup>R</sup>), die bis zu 50% Gewichtsanteile an Cyanid enthalten (65, 86).

Aus Blausäureglykosiden kann die Säure enzymatisch durch die auch bei der Synthese aktiven  $\beta$ -Glykosidasen (z.B. Emulsin) bei mechanischer Zerstörung des Pflanzengewebes, beim Gefrieren der Pflanzen, beim Verwelken etc. und durch die Pansenflora der Wiederkäuer freigesetzt werden und so zur Vergiftung der Weidetiere führen (80, 86, 89, 106). Toxikologisch bedenklich sind Blausäureglykosidgehalte in Futterpflanzen von mehr als 0,02% (89).

#### 1.4. Toxizität

Blausäure und ihre Verbindungen sind nach GLEASON et al. als extrem giftig zu bezeichnen (32).

Ihre orale  $DL_{50}$  wird beim Menschen mit 1 mg/kg Körpergewicht angenommen (58, 68). Sie ist für das Kaliumsalz auch bei Tieren nicht exakt ermittelt, da dieses häufig durch seine alkalinekrotische Wirkung an den Schleimhäuten des Magen-Darm-Traktes Erbrechen auslöst (43).

Die subcutane  $DL_{50}$  der Blausäure beträgt beim Hund 3 mg/kg Körpergewicht (37, 40); die entsprechende Dosis des Kaliumsalzes liegt bei 6 mg/kg (15, 154). Kaliumcyanid verursacht lokale Alkalinekrosen (52).

Über Einzelheiten der Toxizität der Blausäure und ihrer Salze bezüglich verschiedener Spezies orientiert Tabelle 1.

| Verbindng. | Species   | Verabreichung | Dosis<br>mg/kg | Wirkung   | Lit.   |
|------------|-----------|---------------|----------------|-----------|--------|
| HCN        | Mensch    | pulm.         | 180-250<br>ppm | LD        | 58     |
| HCN        | Kaninchen | oral          | 3,0            | $LD_{50}$ | 29     |
| HCN        | Kaninchen | oral          | 4,0            | LD        | 63     |
| HCN        | Kaninchen | s.c.          | 3,0            | $LD_{50}$ | 18     |
| HCN        | Kaninchen | i.v.          | 0,8            | $LD_{50}$ | 18     |
| HCN        | Hund      | s.c.          | 2,5-3,0        | $LD_{50}$ | 37, 40 |
| HCN        | Hund      | i.v.          | 0,7            | LD        | 76     |
| KCN        | Mensch    | oral          | 3,5            | LD        | 68     |
| KCN        | Maus      | s.c.          | 8,5            | $LD_{50}$ | 109    |
| KCN        | Maus      | i.p.          | 3,0-10         | MLD       | 98     |
| KCN        | Maus      | i.v.          | 2,5            | LD        | 7, 98  |
| KCN        | Ratte     | oral          | 10-15          | MLD       | 7, 98  |
| KCN        | Ratte     | s.c.          | 7,8            | $LD_{50}$ | 20     |
| KCN        | Ratte     | i.v.          | 2,5            | MLD       | 98     |
| KCN        | Meerschw. | i.p.          | 8,3            | LD        | 92     |
| KCN        | Kaninchen | s.c.          | 1,1-3,0        | LD        | 7, 14  |
| KCN        | Katze     | s.c.          | 1,0-2,0        | LD        | 7      |

| Verbindg.      | Species   | Verabrei-<br>chung | Dosis<br>mg/kg | Wirkg.           | Lit.   |
|----------------|-----------|--------------------|----------------|------------------|--------|
| KCN            | Hund      | oral               | 1, 6-5, 3      | LD               | 7, 98  |
| KCN            | Hund      | s.c.               | 6, 0           | LD <sub>50</sub> | 15, 54 |
| KCN            | Taube     | i.m.               | 4, 0           | MLD              | 7, 98  |
| KCN            | Taube     | i.v.               | 4, 0           | MLD              | 7, 98  |
| KCN            | Frosch    | s.c.               | 149            | MLD              | 98     |
| NaCN           | Maus      | s.c.               | 10, 0          | LD <sub>50</sub> | 36     |
| NaCN           | Kaninchen | s.c.               | 2, 2           | MLD              | 98     |
| NaCN           | Hund      | s.c.               | 6, 0           | LD <sub>50</sub> | 15     |
| NaCN           | Frosch    | s.c.               | 60-65          | MLD              | 98     |
| HCN-Glyk. Wdk. |           | oral               | 4, 0           | LD               | 7      |

Tab. 1: Toxizität von Blausäure und einiger ihrer Salze bei verschiedenen Species nach unterschiedlicher Verabreichung.

Abkürzungen:

|       |                        |
|-------|------------------------|
| ppm   | ml/m <sup>3</sup> Luft |
| i.m.  | intramuskulär          |
| i.p.  | intraperitoneal        |
| i.v.  | intravenös             |
| s.c.  | subcutan               |
| Glyk. | Glykoside              |
| Wdk.  | Wiederkäuer            |

LD = Lethal Dose

= Diejenige Dosis, die ein Tier tötet (98)

MLD = Minimal lethal dose

= Die kleinste Dosis von verschiedenen Dosen,  
die ein Tier in einer Versuchsgruppe tötet (98)

LD<sub>50</sub> = Diejenige Dosis, die 50% der Tiere einer Versuchs-  
gruppe tötet (Versuchsgruppe besteht gewöhnlich aus  
10 oder mehr Tieren) (98).



Die Tabellenwerte legen nahe, daß die Toxizität der Blausäure und ihrer Verbindungen unter anderem offensichtlich artspezifische Unterschiede aufweist, wobei Kaninchen, Hund und Katze zu den empfindlicheren, Frosch, Ratte und Maus zu den weniger empfindlichen Species zu rechnen sind. Der Tabelle läßt sich weiterhin entnehmen, daß die oben erwähnten pflanzlichen Blausäureglykoside zwar weniger giftig als Blausäure und die säurelöslichen Cyanide sind, jedoch eine beachtliche Toxizität und damit eine erhebliche praktische Bedeutung als Vergiftungsquelle für Weidetiere besitzen.

### 1.5. Stoffwechsel

Blausäure wird in jeder Form schnell und in erheblichem Umfang in den Organismus aufgenommen (26, 90). Die Dampfform kann bei entsprechender Konzentration (mehr als 500 ppm (68)) über die Lunge nahezu schlagartig zum Atemstillstand führen (68, 116). Flüssige Säure dringt sowohl durch die Haut (58) als auch durch die Darmschleimhaut und verursacht bei oraler Zufuhr tödlicher Dosen im Verlauf von Minuten zentrale Atemlähmung. Nahezu gleich schnell erfolgt die enterale Resorption der Salze der Blausäure (54, 116), da sich diese mit der Salzsäure des Magens rasch zu Blausäure umsetzen (68).

Nach der Resorption werden nicht tödliche Dosen von Blausäure zu relativ ungiftigem Thiocyanat ( $\text{SCN}^-$ ) metabolisiert (90, 97). Dies wurde schon 1895 von S. LANG (63) an blausäurevergifteten Hunden beobachtet. Die Rhodanidbildung wird durch das von K. LANG (62) entdeckte und 1953 von SÖRBO (94, 95, 96) rein dargestellte Enzym Rhodanese katalysiert. Das Enzym ist vor allem in den Lebermitochondrien lokalisiert und von entscheidender Bedeutung für die endogene Entgiftung der Blausäure (21, 90).

Die Ausscheidung der Blausäure erfolgt entweder unverändert über die Lunge, oder als harnfähiges Thiocyanat über die Nieren (62, 63).

### 1.6. Wirkungsmechanismus

Die Giftwirkung der Blausäure beruht auf der reversiblen Bindung des Cyanids an das dreiwertige Eisen des gelben Atemferments:

$\text{CN}^-$  + Ferricytochromoxidase —●— Ferricytochromoxidase-CN

Da somit die Cytochromoxidase inaktiviert wird, kommt die Sauerstoffübertragung vom Hämoglobin auf die Körpergewebe schlagartig zum Erliegen (9, 11, 89, 90, 101, 109, 112). Der zeitliche Ablauf der Fermenthemmung geht aus Abbildung 1 hervor.

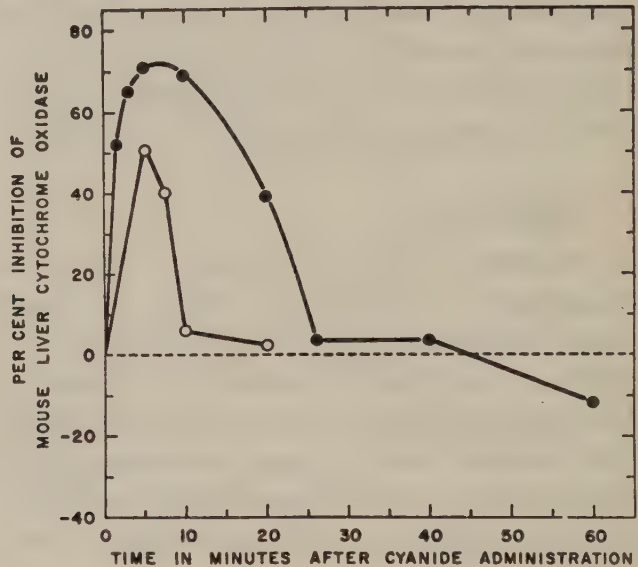


Abb. 1: Hemmung der Leber-Cytochromoxidase bei Mäusen nach i. p.-Applikation von 5 ●—● bzw. 3 ○—○ mg KCN/kg Körpergewicht. n = 6-16 (nach SCHUBERT and BRILL, 90).

Die Abbildung zeigt, daß bereits 5-10 Minuten nach intraperitonealer (i. p.) Verabreichung von Cyanid eine maximale Fermenthemmung eintritt (90). Die Folge ist ein Ausfall der intrazellulären Sauerstoffverwertung trotz optimaler Sauerstoffsättigung des (nun hellroten) Blutes (9, 11, 89, 90, 101, 109, 112).

Untersuchungen von KWASENKO (61) zeigen, daß Gaben tödlicher Dosen von Natriumcyanid (bei Katzen 2,0 - 2,2 mg/kg i. v.) eine unterschiedliche Fermenthemmung in den einzelnen Körpergeweben bewirken.

Unmittelbar nach Eintritt des Todes verringerte sich die Aktivität der Cytochromoxidase im Gehirn um 66% - 68%, in der Leber um 20% und in den Nieren um 24%.

Bei einer Fermenthemmung von 40 - 50% im Gehirn überlebten die Tiere.

Somit hängen Verlauf und Ausgang einer Intoxikation mit Cyaniden davon ab, bis zu welchem Grade die Gewebeatmung des Gehirns unterdrückt wird (61).

#### 1.7. Vergiftungssymptome

Niedere Blausäuredosen verursachen einen Anstieg des Blutdrucks, der Herzfrequenz und des Schlagvolumens (60) sowie eine Hyperventilation (27, 38, 89). Die Ursache des Auftretens einer Hyperventilation untersuchten HEYMANS et al. in Hundeversuchen (38). Es zeigte sich, daß niedere Dosen von Cyanid reflektorisch über den sinus carotis das Atemzentrum erregen (38).

Tödliche Blausäuredosen bewirken eine momentane Hyperventilation, Herzbeschleunigung mit nachfolgendem Blutdruckabfall (107) und eine verminderte Durchblutung des Gehirns (75). Schon nach Minuten treten tonisch-klonische Krämpfe, Opisthotonus und Atemstillstand bei zunächst langsam weiterschlagendem und schließlich gleichfalls stillstehendem Herzen auf (27, 68, 90).

#### 1.8. Pathologisch anatomisches Vergiftungsbild

Auffallendster Befund nach akuter Blausäurevergiftung ist das hellrote Venenblut. Es ist jedoch nur unmittelbar vor Eintritt des Todes beobachtbar und kann in späterem Verlauf eine dunkle Färbung annehmen. Weitere Befunde sind die bei jeder Anoxie feststellbaren und damit unspezifischen petechialen Blutungen, insbesondere auf der Tracheal- und Bronchialschleimhaut. Die Muskulatur ist dunkel verfärbt. Bei Eröffnung des Verdauungskanals ist häufig, jedoch nicht regelmäßig ein charakteristischer Geruch nach bitteren Mandeln feststellbar (83).

Bei der langsamer verlaufenden Vergiftung von Weidetieren durch blausäureglykosidhaltige Pflanzen ist - neben dem erwähnten typischen Mandelgeruch - meist nur eine Rötung des Verdauungskanals zu beobachten (86).

### 1.9. Therapie der Blausäurevergiftung

Eine Behandlung der Blausäurevergiftung ist vor allem auf folgende Weise versucht worden:

- Umwandlung von Cyanid zu Thiocyanat,
- Bindung von Cyanid durch Cobalt,
- Bindung von Cyanid an Ferrihämoglobin und
- Bindung von Cyanid an Ferrihämoglobin mit anschließender Überführung in Thiocyanat

#### 1.9.1. Umwandlung von Cyanid zu Thiocyanat ( $\text{SCN}^-$ )

Die Entgiftung des Cyanids im Organismus erfolgt durch seine Umwandlung zu Thiocyanat. (s.S. 7 ) Somit lag es nahe, als (kausale) Therapiemaßnahme bei der Blausäurevergiftung zunächst eine Aktivierung der Metabolisierung zu versuchen. Mit dieser Absicht wurde Thioschwefel - meist in Form von Thiosulfat ( $\text{S}_2\text{O}_3^{--}$ ) (41) - verabreicht (13, 14, 16, 28, 40, 41, 44, 90, 117). Die Ergebnisse waren jedoch nicht befriedigend, da Thiosulfat bei dem hochakuten Verlauf der Blausäurevergiftung nicht rasch genug wirkt (28, 110). Die Ursache ist offenbar eine zu langsame Penetration durch die Zellmembran, d.h. eine weitgehend extrazelluläre Verteilung und schnelle renale Ausscheidung des Thiosulfats (30, 62, 63, 90, 97).

Trotz dieser beschränkten Wirksamkeit scheint die Verabreichung von Thiosulfat in Verbindung mit anderen Antidoten zu brauchbaren Ergebnissen zu führen (11, 12, 13, 14, 16, 18, 110, 111).

#### 1.9.2. Bindung von Cyanid an Kobalt (Co)

Die Affinität des Cyanids zum Kobalt (30) veranlaßte viele Toxikologen, Kobalt-Histidin ( $\text{Co}(\text{His})_2$ ) (30, 91) und Kobaltchelate bei der Blausäurevergiftung zu erproben (3, 23, 30, 33, 39, 46, 66, 67, 68, 77, 79, 91, 93, 110). Mit am schnellsten von diesen Kobaltverbindungen bildet Kobalt-EDTA ( $\text{Co}_2$ -EDTA) einen gut wasserlöslichen Cyanidkomplex (4).

Kobaltverbindungen blockieren - wie viele Schwermetalle - SH-Gruppen von

Enzymen, Membranen, Hormonen und Proteinen. Da sie in molarem Verhältnis Kobalt-Cyanid-Komplexe bilden, besteht bei überschüssig verabreichtem Kobalt die Gefahr einer Schwermetallvergiftung (79, 85). Kobaltverbindungen verursachen eine Kapillarlähmung mit akutem Blutdruckabfall und besitzen antithyreoidale Eigenschaften (2, 3, 68, 71, 103). Aus diesen Gründen können Kobaltverbindungen zur Behandlung einer Blausäurevergiftung kaum empfohlen werden, solange andere Therapiemöglichkeiten bestehen (71, 85).

#### 1.9.3. Bindung von Cyanid an Ferrihämoglobin (HbFe<sup>III</sup>)

Die Affinität des Cyanids zum Fe<sup>III</sup> des Ferrihämoglobins ist größer als zum Fe<sup>III</sup> der Cytochromoxidase (8, 11, 22, 90). Somit kann durch eine Ferrihämoglobinbildung Cyanid dem gelben Atemferment entzogen werden, wodurch die Zellatmung wieder reaktiviert wird (1, 6, 9, 11, 90, 102).

Das hierzu benötigte Ferrihämoglobin (Hämoglobin, Methämoglobin) entsteht bei der Oxidation des zweiwertigen Eisens des Hämoglobins zu dreiwertigem Eisen. Es ist im Gegensatz zum Ferrohämoglobin (Hämoglobin) nicht in der Lage den Sauerstoff reversibel zu binden und zu den Körpergeweben zu transportieren. Zur Aufrechterhaltung der Sauerstoffversorgung darf bei dieser Therapie der Blausäurevergiftung nur ein Teil des Hämoglobins in Ferrihämoglobin umgewandelt werden (9).

Die Umwandlung des Hämoglobins in Ferrihämoglobin ist prinzipiell auf zwei verschiedene Arten möglich:

1. mit Hilfe von Substanzen, die in direkter Oxidation das Eisen des Blutfarbstoffs oxidieren und dabei selbst reduziert werden (1) und
2. mit Hilfe von Substanzen, die in Form einer gekoppelten Oxidation mit dem hämoglobine gebundenen Sauerstoff reagieren, intermediär H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bilden und dabei selbst oxidiert werden. Die Oxidation des Eisens erfolgt in diesem Fall durch das entstandene Wasserstoffperoxid (1).

Zur Gruppe der direkten Ferrihämoglobinbildner gehören neben anderen Verbindungen Chlorate, Chinone und Chinonimine, sowie die Redoxfarbstoffe Methylenblau, Thionin (LAUTH's Violett), Toluidinblau und Tholuylenblau (1).



Zur Gruppe der indirekten Ferrihämoglobinbildner (gekoppelte Oxidation) zählen unter anderem Nitrite, Arsenwasserstoff, Hydroxylamin, Phenylhydrazin sowie aromatische Nitro- und Aminoverbindungen (1, 48). Letztere bilden katalytisch sehr viel Ferrihämoglobin, weil sie in einem Kreisprozess immer wieder enzymatisch reduziert werden (1, 48).

Ein Teil der indirekten Ferrihämoglobinbildner bewirken Veränderungen im Erythrozyten in Form von HEINZ-Körperchen mit nachfolgender Hämolyse (99).

Die Anwendung direkter Ferrihämoglobinbildner brachte nach Applikation sicher tödlicher Dosen von Blausäure einen zweifelhaften oder gar keinen Erfolg (44, 87, 93, 115).

Von den indirekten Ferrihämoglobinbildnern waren zunächst die Nitrite die meist erprobten und angewendeten Blausäureantidote (114). Amylnitrit (5, 15, 47) erwies sich bei einer akuten Blausäurevergiftung als unzureichend (15, 47, 74). Es bildet nach Verabreichung nicht toxischer Dosen bei extremer Vasodilatation nur sehr geringe Mengen an  $\text{HbFe}^{\text{III}}$  (74). Natriumnitrit ( $\text{NaNO}_2$ ) wurde wiederholt allein und in Kombination mit Natriumthiosulfat ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) erprobt (8, 11, 12, 14, 16, 40, 42, 77, 79, 100). Der Erfolg bei einer Vergiftung mit hohen Blausäuredosen ist jedoch unbefriedigend, da Natriumnitrit bei einer Dosierung von 1g pro Mensch den Blutdruck durchschnittlich um 12% des Ausgangswertes senkt (108). Nach intravenöser Injektion besteht Kollapsgefahr (35, 57, 71, 108). Deshalb kann Natriumnitrit in therapeutischen Dosen, d.h. zur Bildung von 30% Ferrihämoglobin nicht angewendet werden (53). Weiterhin erfolgt der Wirkungseintritt zu langsam, da die Zeit bis zum Eintritt der halbmaximalen Ferrihämoglobinkonzentration durchschnittlich 12 Minuten beträgt (57, 111) und die maximale Konzentration erst nach eineinhalb Stunden erreicht wird (8, 75).

Die Ferrihämoglobinbildung mit aromatischen Aminoverbindungen erwies sich als wirksamer. p-Aminopropiophenon brachte keine Verbesserung in der Therapie (22, 37, 47, 78, 84, 88), da die zur Erzielung einer schnellen Ferrihämoglobinbildung erforderlichen hohen Dosen im späteren Verlauf tödliche Mengen Ferrihämoglobin bilden (54).

Bei der weiteren Suche nach schnell wirksamen Ferrihämoglobinbildnern erprobten KIESE, WEGER et al. (49, 50, 51, 52, 53, 56, 57) verschiedene Aminophenole. Einige Aminophenole bildeten besonders schnell dosisabhängige Ferrihämoglobinkonzentrationen, wiesen jedoch Spezies-abhängige Wirkungsunterschiede auf: p-Aminophenol (45, 50, 80), p-Methylaminophenol und p-Butylaminophenol (51) reagierten mit dem Hämoglobin des Hundebbluts schnell, jedoch mit Rinderblut wesentlich langsamer (45, 50, 51, 80). o-Aminophenol oxidiert Hämoglobin von Mäusen und Hunden besonders schnell (45, 54, 55, 80). Diese Ferrihämoglobinbildner reagierten jedoch viel zu langsam mit Menschenblut (50, 53, 56).

## 2. Pharmakologie und Toxikologie des 4-Dimethylaminophenols

4-Dimethylaminophenol (4-DMAP) reagierte mit dem Hämoglobin aller Species nahezu gleich schnell (53, 57, 71, 111, 112, 113, 114).

### 2.1. Chemisch-physikalische Eigenschaften

4-Dimethylaminophenol  $(\text{CH}_3)_2\text{N} \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{OH}$  besitzt folgende Strukturformel:



Es wird durch Kochen von 4-Dimethylamino-phenylacetat mit alkoholischer Kalilauge dargestellt (6). Die dabei entstehenden Kristalle werden mit n-Hexan umkristallisiert (6). Sie sind farb- und geruchlos. 4-Dimethylaminophenol ist amphoter, jedoch von überwiegend basischem Charakter (6, 70). Das Molekulargewicht von 4-Dimethylaminophenol ist 137, 18 (6). Der Schmelzpunkt beträgt 74-76°C, der Siedepunkt bei 30 mm Hg 165°C (6). 4-Dimethylaminophenol ist in den meisten organischen Lösungsmitteln - ausgenommen Ligroin - leicht löslich (6). Es ist ein Reduktionsmittel. In Pulverform ist es mit Wasserdampf nur langsam flüchtig und reagiert mit Sauerstoff unter Graufärbung (6, 70).

Das Hydrochlorid des 4-Dimethylaminophenols ist in Wasser gut löslich. In Lösung ist es nur unter Sauerstoffabschluß haltbar, da dieser eine sofortige Oxidation mit einhergehender Violettfärbung bewirkt.

### 2.2. Toxizität

Die  $\text{DL}_{50}$  von 4-Dimethylaminophenol wurde bisher nur bei Mäusen festgestellt und beträgt bei diesen 50 mg/kg i.v. (57, 114). Nager sind jedoch unempfindlicher als andere Species, wie die folgende Tabelle zeigt:

| Maus                              | Katze | Hund | Mensch |
|-----------------------------------|-------|------|--------|
| 4-Dimethylaminophenol-HCl (mg/kg) |       |      |        |
| 25,0                              | 3,0   | 2,5  | 3,25   |

Tab. 2: Benötigte Dosen von 4-Dimethylaminophenol-HCl (mg/kg) bei verschiedenen Species zur Bildung von 30% Ferrihämoglobin. Das 4-Dimethylaminophenol wurde intravenös verabreicht (57, 114).

Untersuchungen auf eine eventuelle Giftwirkung von 4-Dimethylaminophenol nach Verabreichung therapeutischer Dosen haben ergeben, daß 24 Stunden nach i. v.-Injektion keine HEINZ-Körper (112, 114) entstehen. Auch die Serumtransaminasen bleiben unverändert (112, 114).

### 2.3. Stoffwechsel

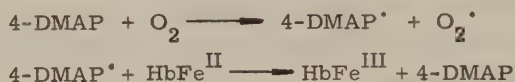
4-Dimethylaminophenol wird über die Nieren ausgeschieden (114). Im Mittel werden mit dem Harn innerhalb von 8 Stunden 16% einer intravenös verabreichten Dosis eliminiert (114). Nach Inkubation des Harns mit Glukuronidasesulfatase wurden nach der gleichen Zeit 30% einer intravenös verabreichten Dosis im Urin festgestellt (24).

In vitro Versuche ergaben, daß das 4-Dimethylaminophenol rasch die Bindung zum Blutfarbstoff löst (24).

Nach Markierung des 4-Dimethylaminophenols mit  $^{14}\text{C}$  an Ring und Methylgruppe konnte als Metabolite 4-Methylaminophenol, Chinon bzw. Hydrochinon, sowie Formaldehyd, Dimethylamin und ein blauer und gelber Farbstoff nachgewiesen werden (25).

#### 2.4. Wirkungsmechanismus

4-Dimethylaminophenol bildet Ferrihämoglobin über eine gekoppelte Oxidation (1, 48). Dabei zeigt es echte katalytische Eigenschaften (48). Es überträgt in vivo ein Elektron auf molekularen Sauerstoff (48). Das dabei entstehende 4-Dimethylaminophenol-Radikal wird von einem Elektron des Hämoglobins wieder zur Ausgangssubstanz reduziert, wobei Ferrihämoglobin entsteht (48). Dieser Vorgang ist formal folgendermaßen vorstellbar:



Dieser Kreislauf wiederholt sich, solange 4-Dimethylaminophenol im Organismus vorhanden ist (48).

4-Dimethylaminophenol bildet schon in niedriger Dosis schnell therapeutische Konzentrationen von Ferrihämoglobin (53, 57, 111). Versuche in vitro und in vivo ergaben, daß es nach 1-2 Minuten (Mensch, Hund) die Hälfte der maximalen Ferrihämoglobin-Konzentration bildet (57, 114). Die maximale Konzentration wurde nach 10-20 Minuten erreicht (57, 114).

#### 2.5. Weitere Eigenschaften des 4-Dimethylaminophenols

4-Dimethylaminophenol bewirkt beim blausäurevergifteten Lebewesen eine schnelle Zunahme der bereits verminderten Strömung in der A. carotis (71, 112, 113, 114). Blutdruck, Atem- und Pulsfrequenz kehren im Laufe von 10 Minuten nahezu zum Ausgangswert zurück (71, 112, 113).

Nach Gabe von 3, 25 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg - einer Dosis, die zur Bildung von 30% Ferrihämoglobin beim Menschen führt - zeigten die betreffenden Versuchspersonen außer einer vorübergehenden Cyanose keine auffallenden Symptome.

Aus den vorstehend beschriebenen Eigenschaften ergibt sich, daß mit dem 4-Dimethylaminophenol ein geeignetes Antidot zur Behandlung von Blausäurevergiftungen zur Verfügung steht.



### III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Im folgenden werden eigene Untersuchungen zur Ermittlung der optimalen Dosierung von 4-Dimethylaminophenol - allein und in Kombination mit Natriumthiosulfat - bei der akuten Blausäurevergiftung von Hunden beschrieben.

Dabei werden zur Abkürzung wiederkehrender Begriffe folgende Symbole verwendet:

|                                                                                    |                                                                                                      |
|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| D                                                                                  | : Dosis                                                                                              |
| DL <sub>50</sub>                                                                   | : Diejenige Gewichtsmenge eines Pharmakons, die bei 50% der Tiere einer Versuchsgruppe tödlich wirkt |
| 4-DMAP                                                                             | : 4-Dimethylaminophenol                                                                              |
| 4-DMAP-HCl                                                                         | : 4-Dimethylaminophenolhydrochlorid                                                                  |
| Ges.Hb                                                                             | : Gesamthämoglobin                                                                                   |
| HbFe <sup>II</sup>                                                                 | : Ferrohämoglobin                                                                                    |
| HbFe <sup>III</sup>                                                                | : Ferrihämoglobin                                                                                    |
| HbFe <sup>III</sup> -CN                                                            | : Ferrihämoglobin-Cyanid                                                                             |
| Hb                                                                                 | : Hämoglobin                                                                                         |
| KG                                                                                 | : Körpergewicht                                                                                      |
| min                                                                                | : Minuten                                                                                            |
| n s                                                                                | : nicht signifikant                                                                                  |
| i. v.                                                                              | : intravenös                                                                                         |
| n                                                                                  | : Anzahl der Versuchstiere                                                                           |
| p                                                                                  | : Irrtumswahrscheinlichkeit für einen Fehler 1. Art                                                  |
| s <sub>x</sub> <sup>-</sup>                                                        | : Standardabweichung des Stichprobenmittelwertes von $\mu$                                           |
| t                                                                                  | : Zeit                                                                                               |
| $\bar{x}$                                                                          | : Arithmetischer Stichprobenmittelwert                                                               |
| — / — / —                                                                          | : Maßstabverkleinerung im Verhältnis 1:2                                                             |
|  | : Zeitpunkt der i. v.-Injektion des Antidots                                                         |

1. Material und Methodik

1.1. Reagentien

1. Cyanhämglobin-Reagenz<sup>R</sup>,  
ASID-Institut GmbH, München-Lohhof
2. 4-Dimethylaminophenol (4-DMAP)  
Synthetisiert nach Methode E. STEDMANN  
(Biochem. J. 20, 719, 1926)
3. Kaliumcyanid p.a. (KCN),  
MERCK, Darmstadt
4. Kaliumdihydrogenphosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )  
krist. reinst, MERCK, Darmstadt
5. Kaliumhexacyanoferrat (III) gepulvert  
rein, ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ), MERCK, Darmstadt
6. Liquemin<sup>R</sup>, HOFFMANN LA ROCHE, Grenzach
7. di-Natriumhydrogenphosphat-1-hydrat p.a.  
( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 1 \text{ H}_2\text{O}$ ), MERCK, Darmstadt
8. Natriumthiosulfat ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) p.a.  
MERCK, Darmstadt
9. Salzsäure (HCl) 0,1 n, Titrisol<sup>R</sup>,  
MERCK, Darmstadt

1.2. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten 80 männliche oder weibliche Hunde verschiedener Rassen (meist Mischrassen) mit einem Alter zwischen 1 und 10 Jahren.

Die Tiere wurden zunächst drei Wochen lang in Quarantäne gehalten, wo sie gebadet, entwurmt und gegen Staupe, Hepatitis und Leptospirose immunisiert wurden. Dann kamen sie in klimatisierte Einzelboxen mit automatischer Tränkeanlage, wo die Temperatur bei  $18 - 20^\circ\text{C}$  und die Luftfeuchtigkeit zwischen 60 und 80% gehalten wurde.

Die Fütterung der Hunde erfolgte die Woche über einmal täglich mit gekochtem Freibankfleisch und Haferflocken, am Wochenende (zwei Wochentage) mit Trockenfutter und Knochen.

Zur Versuchsdurchführung wurden die Tiere unter Belassung des Wassers 24 Stunden lang nüchtern gesetzt.

### 1.3. Vergiftung der Versuchstiere

Den Hunden wurde peroral in Wasser gelöstes Kaliumcyanid, das durch Zugabe von 0,1 n Salzsäure (0,0146 ml/1 mg KCN) in Blausäure umgewandelt wurde, mittels einer Magenschlundsonde verabreicht. Jeweils 10 Tiere erhielten 50 bzw. 36 bzw. 24 mg Kaliumcyanid/kg KG.

### 1.4. Verabreichung des Antidots

Unmittelbar vor oder während des Atemstillstandes wurde 4-Dimethylaminophenol, bei zwei Versuchsreihen direkt anschließend Natriumthiosulfat, intravenös injiziert.

Je Kaliumcyaniddosis wurden 2 - 3 verschiedene Antidotdosen geprüft. Dazu wurden 2,5 mg oder 5 mg oder 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg intravenös injiziert. Bis zur endgültigen Erholung der Tiere mußte nochmals ein oder zwei Mal die Hälfte der Anfangsdosis des Antidots verabreicht werden. Wurde zusätzlich Natriumthiosulfat gegeben, dann immer in einer Dosis von 500 mg/kg.

Als Lösungsmittel beider Antidote wurde 0,9% Kochsalzlösung verwendet.

### 1.5. Blutentnahme

Die Blutentnahme diente zur Ermittlung des Gesamthämoglobins, des Ferrihämoglobins sowie des Ferrohämoglobins, das noch für den Sauerstofftransport vorhanden war. Hierzu wurde den Tieren zwei Stunden lang nach Verabreichung des Cyanids in 20-Minuten-Abständen und dann vier Stunden lang in 60-Minuten-Abständen Blut aus der V.saphena und der V.cephalica antebrachii entnommen und durch Zusatz von Liquemin<sup>R</sup> ungerinnbar gemacht.

## 1.6. Bestimmung des Gesamthämoglobins

### 1.6.1. Prinzip

Hämoglobin wird durch eine Transformationslösung, die Kaliumhexacyanoferrat(III) und Kaliumcyanid enthält, in das sehr stabile Cyanhämglobin überführt. Die Extinktionsmessung erfolgt im Eppendorf-Photometer.

### 1.6.2. Lösungen

Blut (heparinisiert mit Liquemin<sup>R</sup>) 0,02 ml

Cyanhämglobinreagenz (1.1.1.) 5,0 ml

### 1.6.3. Ausführung

Der Meßansatz bleibt 20 min. stehen.

Die Extinktionsmessung erfolgt in Glasküvetten mit 1 cm Schichtdicke im Eppendorf-Photometer mit Filter Hg 546 nm. Die Vergleichsküvette enthält die reine Cyanhämglobinlösung, die andere Küvette den Meßansatz.

Da der Peak bei 546 nm sehr schmal ist, kann die Messung nur in einem Filterphotometer erfolgen.

### 1.6.4. Umrechnung der gemessenen Extinktionsdifferenz $\Delta E$ in g Ges.Hb/100 ml Blut

Der Faktor zur Umrechnung wurde an Hand einer Eichkurve festgestellt:  
 $F = 39,5 (= \text{const.})$

$$\text{g Ges.Hb} / 100 \text{ ml Blut} = \Delta E \times 39,5$$

## 1.7. Bestimmung des noch frei im Blut vorhandenen Ferrihämoglobins

### 1.7.1. Prinzip

Ferrihämoglobin bildet mit Cyanid einen roten Farbkomplex ( $\text{HbFe}^{\text{III}}\text{-CN}$ ), der bei 550 nm eine Bande zeigt (Abb. 2).

Spektren von Ferrihämoglobin  
und Ferrihämoglobin-Cyanid  
(pH 6,6)

Differenzspektrum  
Ferrihämoglobin-Cyanid / Ferri-  
hämoglobin (pH 6,6)



Abb. 2a: Spektren von Ferrihämoglobin und Ferrihämoglobin-Cyanid

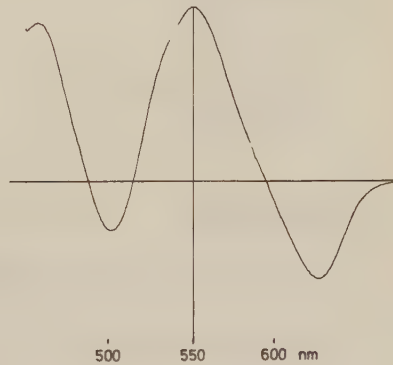


Abb. 2b: Differenzspektrum von Ferrihämoglobin-Cyanid/Ferrihämoglobin

Werden ca. 4 ml des Messansatzes mit 0,5-2,0 mg Kaliumcyanid (1.1.3.) versetzt, so bewirkt der durch das gebildete Ferrihämoglobincyanid eintretende Farbunterschied eine Extinktionszunahme, welche photometrisch erfaßt wird.



### 1.7.2. Lösungen

#### a.) Phosphatpuffer (0,2 molar)

|                                    |        |
|------------------------------------|--------|
| Natriumdihydrogenphosphat-1-hydrat | 15,3   |
| Kaliumdihydrogenphosphat           | 15,5   |
| Aqua dest. ad                      | 1000,0 |

pH-Wert liegt zwischen 6,0 und 6,8.

Er wird auf pH 6,6 eingestellt.

#### b.) Messansatz

|                      |         |
|----------------------|---------|
| Aqua dest.           | 10,0 ml |
| Blut (heparinisiert) | 0,1 ml  |
| Phosphatpuffer       | 1,0 ml  |

### 1.7.3. Ausführung

0,1 ml Blut werden in 10 ml Wasser hämolysiert, nach Zugabe des Phosphatpuffers filtriert und bei 1 cm Schichtdicke gemessen.

Ein Teil des Meßansatzes wird als Vergleichslösung verwendet. Mit dem anderen Teil der Meßlösung wird nach Zugabe des Kaliumcyanids die Extinktionszunahme bei 550 nm photometriert (Spektralphotometer PMQ II, Fa. Zeiss, Oberkochen).

Da der Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplex instabil ist, muß die Messung unverzüglich durchgeführt werden.

### 1.7.4. Umrechnung der gemessenen Extinktionsdifferenz $\Delta E$ in $\text{g HbFe}^{\text{III}} / 100 \text{ ml Blut}$

$$\text{HbFe}^{\text{III}} \text{ g} / 100 \text{ ml Blut} = \Delta E \times 32,01 \quad (F = \text{const.})$$

## 1.8. Bestimmung des im Blut noch vorhandenen Ferrohämoblobins

### 1.8.1. Prinzip

Durch Zusatz von 1,0 - 2,0 mg Kaliumcyanid zur gesamten Meßlösung wird alles Ferrihämoblobin in den roten Farbkomplex Ferrihämoblobin-Cyanid übergeführt.

Kaliumhexacyanoferrat oxidiert Hämoblobin zu Ferrihämoblobin. Wird ein Teil des Meßansatzes mit 2 Tr. Kaliumhexacyanoferrat versetzt, so kann der eintretende Farbunterschied photometrisch erfaßt werden.

### 1.8.2. Lösungen

a.) Phosphatpuffer: s. 1.7.2.a

b.) Meßansatz:

|                |              |
|----------------|--------------|
| Aqua dest.     | 10,0 ml      |
| Blut           | 0,1 ml       |
| Phosphatpuffer | 1,0 ml       |
| Kaliumcyanid   | 1,0 - 2,0 mg |

### 1.8.3. Ausführung

0,1 ml Blut werden in 10 ml Wasser hämolysiert, der vollständige Meßansatz filtriert und bei 1 cm Schichtdicke gemessen. Ein Teil des Meßansatzes wird als Vergleichslösung verwendet. Mit dem anderen Teil der Meßlösung wird nach Zugabe von 2 Tr. 10% Kaliumhexacyanoferratlösung die Extinktionsänderung gemessen, die bei 578 nm eintritt, wenn Oxihämoblobin zu Ferrihämoblobin-Cyanid umgewandelt wird (Abb. 3).

Spektren von Oxyhämoglobin  
und Ferrihämoglobin-Cyanid  
(pH 6.6)

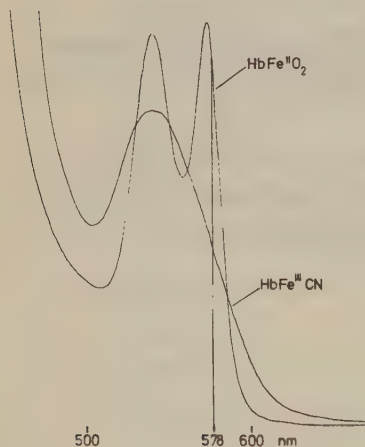


Abb. 3a: Spektren von  
Oxihämoglobin und Ferri-  
hämoglobin-Cyanid

Differenzspektrum  
Oxyhämoglobin / Ferrihämoglobin -  
Cyanid (pH 6.6)

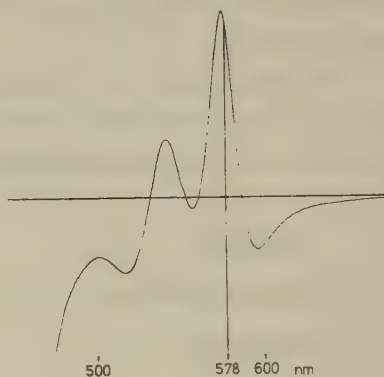


Abb. 3b: Differenzspektrum  
Oxihämoglobin/Ferrihämoglobin-  
Cyanid

Wie aus den Abbildungen hervorgeht, ist der Peak bei 578 nm sehr schmal. Die Extinktion muß daher bei konstanter Wellenlänge mit einem Filterphotometer gemessen werden. (Filterphotometer Eppendorf mit Quecksilberlampe, Netheler & Hinz GmbH, Hamburg).

#### 1.8.4. Umrechnung der gemessenen Extinktionsdifferenz $\Delta E$ in g HbFe<sup>II</sup> / 100 ml Blut

Der Faktor zur Umrechnung muß bei jedem Tier erneut festgestellt werden. Er errechnet sich aus den beiden Ausgangswerten des Ges.Hb und des HbFe<sup>II</sup> wie folgt:

$$F = \frac{\text{Ges.Hb g/100 ml Blut (AW)}}{\Delta E \cdot \text{HbFe}^{\text{II}} \text{ (AW)}} \quad (\text{AW} = \text{Ausgangswert})$$

$$\text{HbFe}^{\text{II}} \text{ g/100 ml Blut} = \Delta E \times \text{ermittelter Faktor}$$

### 1.9. Berechnung des Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplexes

Der Ferrihämoglobin-Cyanid-Anteil im Blut blausäurevergifteter Versuchstiere wurde nicht direkt bestimmt, sondern aus den oben angegebenen Parametern auf Grund folgender Überlegung berechnet:

Unter physiologischen Bedingungen gilt die Beziehung

$$\text{HbFe}^{\text{II}} = \text{Ges.Hb.} \quad (1)$$

Wird ein Teil des  $\text{HbFe}^{\text{II}}$  zu  $\text{HbFe}^{\text{III}}$  oxidiert, so geht die Beziehung (1) in

$$\text{HbFe}^{\text{II}} + \text{HbFe}^{\text{III}} = \text{Ges.Hb} \quad (2)$$

über.

Die Beziehung (2) wird in Gegenwart von Cyanid wie folgt modifiziert:

$$\text{HbFe}^{\text{II}} + \text{HbFe}^{\text{III}} + \text{HbFe}^{\text{III}}\text{-CN} = \text{Ges.Hb} \quad (3)$$

Hieraus ergibt sich der Ferrihämoglobin-Cyanid-Anteil zu

$$\text{HbFe}^{\text{III}}\text{-CN} = \text{Ges.Hb} - (\text{HbFe}^{\text{II}} + \text{HbFe}^{\text{III}})$$

### 1.10. Fehlerberechnung

Die Streuung der Einzelwerte einer Gruppe um das Gruppenmittel wurde nach folgender Formel berechnet:

$$1.) \quad S_x = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$2.) \quad S_{\bar{x}} = \frac{S_x}{\sqrt{n}}$$

#### Erläuterung der Indices

$S_x$  = Standardabweichung

$\bar{x}$  = arithmetisches Mittel der Stichproben

$x_i$  = Einzelwerte der Stichproben

$n$  = Anzahl der Stichproben

$S_{\bar{x}}$  = Standardabweichung des Stichprobenmittelwertes von  $\mu$ .

### 1.11. Signifikanzanalyse

#### a.) Varianzdifferenz

$$S_{\text{Diff.}} = \sqrt{\frac{\sum (x'_i - \bar{x}')^2 + \sum (x''_i - \bar{x}'')^2}{n' + n'' - 2} \cdot \frac{n' + n''}{n' \cdot n''}}$$

#### Erläuterung der Indices

$S_{\text{Diff.}}$  = Varianzdifferenz

$x'_i$  bzw.  $x''_i$  = Einzelwerte zweier Versuchsreihen

$\bar{x}'$  bzw.  $\bar{x}''$  = arithmetisches Mittel der jeweiligen  
Einzelwerte zweier Versuchsreihen

$n'$  bzw.  $n''$  = Anzahl der Einzeltiere zweier Versuchsreihen

#### b.) Testgröße

$$t = \frac{\bar{x}' - \bar{x}''}{S_{\text{Diff.}}}$$

#### Erläuterung der Indices:

$t$  = Testgröße

$\bar{x}'$  bzw.  $\bar{x}''$  = arithmetisches Mittel der jeweiligen  
Einzelwerte zweier Versuchsreihen

$S_{\text{Diff.}}$  = Varianzdifferenz

#### c.) Freiheitsgrad

$$FG = n' + n'' - 2$$

#### Erläuterung der Indices

$FG$  = Freiheitsgrad

$n'$  bzw.  $n''$  = Anzahl der Einzeltiere zweier Versuchsreihen

#### d.) Bestimmung der Zufallswahrscheinlichkeit

Aus der Testgröße  $t$  ergibt sich in Abhängigkeit von den Freiheitsgraden



eine bestimmte Zufallswahrscheinlichkeit  $p$  (Burn).

Die Zufallswahrscheinlichkeit entspricht dabei:

z.B. bei  $p = 0,5$ : bis 50%;  $0,1$ : bis 10%;  $0,05$ : bis 5% und  $0,01$ : bis 1%.

Eine Zufallswahrscheinlichkeit kleiner als  $0,05$  (= 5%) gilt als signifikant.

## 2. Ergebnisse

Die folgenden Abbildungen und Tabellen zeigen die unter den beschriebenen Bedingungen gewonnenen Ergebnisse. Sie sind in Form der arithmetischen Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und deren Standarderror ( $s_{\bar{x}}$ ) angegeben.

### 2.1. Ferrihämoglobinbildung durch 4-Dimethylaminophenol

#### 2.1.1. Kinetik der Ferrihämoglobinbildung in Hunden

Zunächst wurde die Ferrihämoglobinbildung von 4-Dimethylaminophenol in Abhängigkeit von der Zeit an 15 Hunden untersucht. Das Ergebnis ist in Abbildung 4 dargestellt.

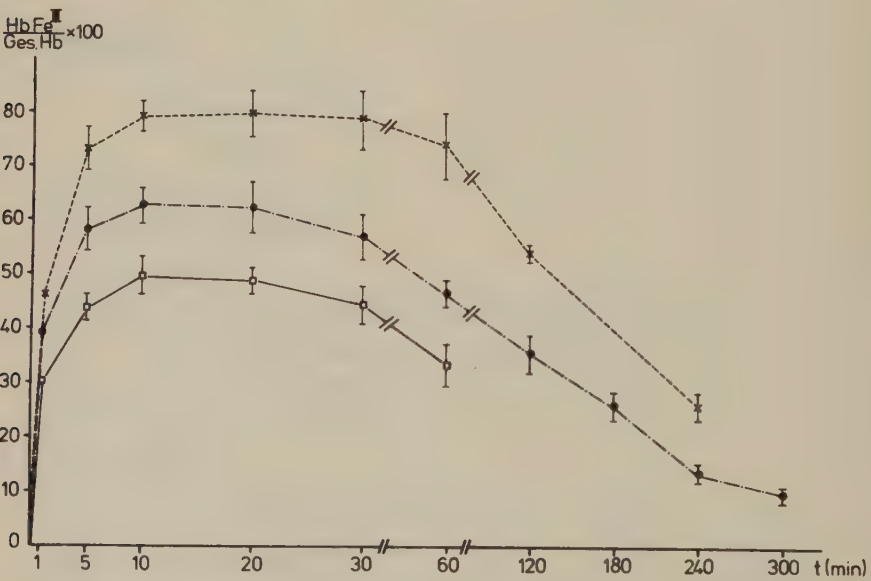


Abb. 4

Abb. 4: Ferrihämoglobinbildung in Hunden nach intravenöser Injektion verschiedener Dosen von 4-Dimethylaminophenol (4-DMAP).  $\bar{x}$  = Standard-Error ( $s_{\bar{x}}$ )

- |   |                     |            |
|---|---------------------|------------|
| □ | 5 mg 4-DMAP-HCl/kg  | 4 Versuche |
| ● | 7 mg 4-DMAP-HCl/kg  | 8 Versuche |
| X | 14 mg 4-DMAP-HCl/kg | 3 Versuche |

Aus Abbildung 4 geht hervor, daß nach intravenöser Injektion von 5, 7 bzw. 14 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg die halbmaximale Ferrihämoglobinkonzentration in weniger als einer Minute erreicht wird. Nach 10 bis 20 Minuten erreichen die Ferrihämoglobinkonzentrationen ihren maximalen Wert. Durchschnittlich werden nach dieser Zeitspanne mit 5 mg 4-DMAP-HCl/kg 49,5%, mit 7 mg 4-DMAP-HCl/kg 62,5% und mit 14 mg 4-DMAP-HCl/kg 79,5% des gesamten Hämoglobins zu Ferrihämoglobin oxidiert. Dieses fällt durch Eigenreduktion im Verlauf von 4 Stunden auf 1/4 bis 1/3 der genannten maximalen Konzentrationen wieder ab.

### 2.1.2. Symptome

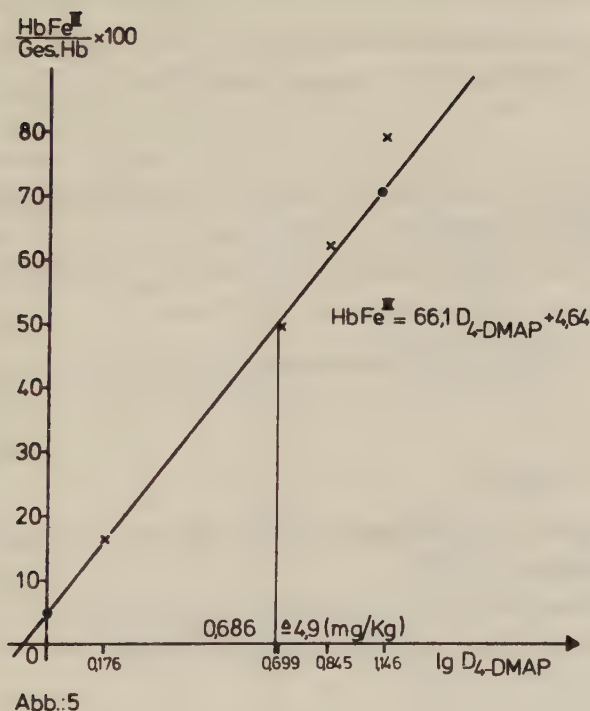
Bei einer Dosis von 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg traten bei den Hunden außer einer vorübergehenden Cyanose keine Veränderungen auf. Nach Gaben von 7 mg 4-DMAP-HCl/kg zeigten die Tiere außer einer Cyanose eine starke Salivation. Eine intravenöse Injektion von 14 mg 4-DMAP-HCl/kg bewirkte bei den Tieren außer einer erschwerten Atmung eine totale Anämie, eine Krampfbereitschaft der Muskulatur der Extremitäten und eine vorübergehende Bewußtlosigkeit. Nach Bildung von fast 80% Ferrihämoglobin mit dieser Dosis starb einer von drei Hunden 60 Stunden nach Versuchsbeginn.

24 Stunden nach Verabreichung von 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg traten bei zwei von acht Hunden, und nach Gabe von 14 mg 4-DMAP-HCl/kg bei allen Versuchstieren Heinz-Körper und Hämolyse auf. Gaben von 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg bewirkten keine Veränderungen dieser Art im Blut der Tiere.

### 2.1.3. Dosis-Wirkungsabhängigkeit der Ferrihämoglobinbildung durch 4-Dimethylaminophenol

Zur Untersuchung der Ferrihämoglobinbildung in Abhängigkeit von der Dosis des 4-Dimethylaminophenols wurden die maximalen Ferrihämoglobinkonzentrationen von 18 Hunden 10-20 Minuten nach der intravenösen Injektion von 4-Dimethylaminophenol ermittelt.

Die Dosis-Wirkungskurve nimmt (in Übereinstimmung mit KIESE, RAUSCHER und WEGER (52) ) bei logarithmischer Transformation der Dosis die in Abbildung 5 dargestellte Gestalt an.



**Abb. 5:** Halblogarithmische Darstellung der Ferrihämoglobinbildung in Hunden - dargestellt durch die Regressionsgerade - nach intravenöser Verabreichung verschiedener Dosen von 4-Dimethylaminophenol.

Die auf der Abszisse angegebenen logarithmischen Werte entsprechen den verabreichten Dosen mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg:

|    |      |   |       |              |
|----|------|---|-------|--------------|
| lg | 1,5  | = | 0,176 | (3 Versuche) |
| lg | 5,0  | = | 0,699 | (4 Versuche) |
| lg | 7,0  | = | 0,845 | (8 Versuche) |
| lg | 14,0 | = | 1,146 | (3 Versuche) |



Die halblogarithmische Dosis-Wirkungsfunktion der Abbildung 4 lässt sich durch die Regressionsgerade

$$\text{Hb(III)\%} = 66,1 D_{4\text{-DMAP}} + 4,64 (\%)$$

beschreiben, da der Korrelationskoeffizient (r) 0,996, d.h. größer als 0,95 ist und damit eine echte Abhängigkeit des Ferrihämoglobingehaltes von der 4-Dimethylaminophenoldosis anzeigt ( $p \ll 0,05$ ).

Aus der Regressionsgeraden lässt sich eine  $ED_{50}$  von 4-Dimethylaminophenol für die Ferrihämoglobinbildung von

$$ED_{50} = 4,9 \text{ mg/kg KG}$$

errechnen.

Es ergibt sich somit

- a) eine gesicherte Abhängigkeit der Ferrihämoglobinbildung von der 4-Dimethylaminophenoldosis und
- b) die Umwandlung von 50% Hämoglobin zu Ferrihämoglobin durch 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl /kg Körpergewicht.

## 2.2. Beeinflussung der Blausäurevergiftung durch 4-Dimethylaminophenol

Zur Ermittlung der optimalen 4-Dimethylaminophenoldosis bei der akuten Blausäurevergiftung wurden folgende Versuche durchgeführt:

| Versuchs-anordnung | n  | 4-DMAP-HCl<br>(mg/kg) | KCN<br>(mg/kg) | Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub><br>(mg/kg) |
|--------------------|----|-----------------------|----------------|----------------------------------------------------------|
| I                  | 10 | 2,5                   | 24,0           | -.-                                                      |
|                    | 10 | 5,0                   | 24,0           | -.-                                                      |
| II                 | 10 | 5,0                   | 24,0           | -.-                                                      |
|                    | 10 | 5,0                   | 36,0           | -.-                                                      |
|                    | 10 | 5,0                   | 50,0           | -.-                                                      |
| III                | 10 | 7,0                   | 36,0           | -.-                                                      |
|                    | 10 | 7,0                   | 50,0           | -.-                                                      |
| IV                 | 10 | 5,0                   | 50,0           | 500,0                                                    |
|                    | 10 | 7,0                   | 50,0           | 500,0                                                    |

Tab. 3: Versuchsanlage zur Ermittlung der optimalen  
4-Dimethylaminophenol-Dosis

Jeweils 10 Hunde (n) wurden nach oraler Gabe der angegebenen Dosis von Kaliumcyanid (KCN) mit 2,5 bzw. 5,0 bzw. 7,0 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg (3. Spalte) intravenös injiziert.

Die Hunde der Versuchsanordnung IV bekamen zusätzlich 500,0 mg Natriumthiosulfat (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) intravenös injiziert.

Die angegebenen Dosierungsschemen innerhalb der Versuchsanordnungen I - IV werden in weiterem miteinander verglichen.

Die Beeinflussung der Blausäurevergiftung bei vorstehenden Versuchsanordnungen wurde anhand folgender Parameter beurteilt:

- a) Überlebensrate
- b) Symptome
- c) Ferrohämoglobin-, Ferrihämoglobin- und Ferrihämoglobin-Cyanid-Anteil des Blutes
- d) Maximale Cyanidbindung

### 2.2.1. Überlebensrate

Bei einem Teil der zuvor genannten Versuchsreihen überlebten nicht alle Versuchstiere. Tabelle 4 gibt über die Anzahl der überlebenden Tiere bei den gewählten Kaliumcyanid-, 4-Dimethylaminophenol- und Natriumthiosulfat-Dosen Aufschluß.

| KCN<br>(mg/kg) | 4-DMAP-HCl<br>(mg/kg) | Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub><br>(mg/kg) | Überlebende<br>Tiere |
|----------------|-----------------------|----------------------------------------------------------|----------------------|
| 24,0           | 2,5                   | -.-                                                      | 9/10                 |
| 24,0           | 5,0                   | -.-                                                      | 10/10                |
| 36,0           | 5,0                   | -.-                                                      | 6/10                 |
| 36,0           | 7,0                   | -.-                                                      | 7/10                 |
| 50,0           | 5,0                   | -.-                                                      | 2/10                 |
| 50,0           | 7,0                   | -.-                                                      | 6/10                 |
| 50,0           | 5,0                   | 500,0                                                    | 10/10                |
| 50,0           | 7,0                   | 500,0                                                    | 10/10                |

Tab. 4: Überlebensrate in Abhängigkeit der Kaliumcyanid-, 4-Dimethylaminophenol- und Natriumthiosulfat-Dosis.

KCN wurde mit Salzsäure versetzt und mittels Magenschlundsonde verabreicht. 4-DMAP und ggf. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> wurden bei Eintritt des Atemstillstands intravenös injiziert.

Als sicher tödliche Dosis bei Hunden wurden 4mg HCN/kg per os (= 10 mg KCN p. kg) von S. LANG (56) angegeben. Die letzte Spalte zeigt, wieviel Hunde jeweils bei einer Versuchsanzahl von je 10 Tieren überlebten.

Wie aus Tabelle 4 hervorgeht, sinkt die Überlebensrate mit Erhöhung der Kaliumcyaniddosis, bei gleichbleibender 4-Dimethylaminophenol-Dosis. Eine Erhöhung der 4-Dimethylaminophenol-Dosis bei gleichbleibender Kaliumcyanid-Dosis erhöht die Überlebensrate.

Werden die Tiere außer mit 4-Dimethylaminophenol noch mit Natriumthiosulfat behandelt, so überleben alle eine Vergiftung mit der höchstgewählten Dosis von Kaliumcyanid = 50 mg/kg = 8-fache  $DL_{50}$ .

(Versuche von WEGER, (103), ergaben, daß Hunde Kaliumcyaniddosen von 120 mg/kg nach Gabe von 2,5 mg 4-DMAP-HCl/kg und 500 mg  $Na_2S_2O_3$  überlebten). Somit überrascht das Ergebnis nach zusätzlicher Gabe von Natriumthiosulfat nicht. Es soll jedoch untersucht werden, welche Dosen von 4-Dimethylaminophenol auch in Verbindung mit Natriumthiosulfat optimal von den Hunden ertragen werden.

### 2.2.2. Symptome

Die im Verlaufe der Blausäurevergiftung und der Behandlung mit 4-Dimethylaminophenol beobachteten klinischen Symptome sind in Tabelle 5 in chronologischer Folge zusammengefaßt.

Die Vergiftungssymptome erfolgten in außerordentlich kurzer Zeit nach oraler Gabe des Kaliumcyanids. Nach 60 - 70 Sekunden trat eine ausgeprägte Hyperventilation auf. Darauf folgten rasch tonisch-klonische Krämpfe und Opisthotonus. Eine Atmung konnte bei den meisten Tieren nach durchschnittlich 3 Minuten bei weiterschlagendem Herzen nicht mehr sicher registriert werden.

Nach intravenöser Gabe von 4-Dimethylaminophenol setzten die Entgiftungssymptome in umgekehrter Reihenfolge schon nach 20 - 40 Sekunden ein.

| Symptom                   | KCN<br>4-DMAP<br>Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | (mg/kg)             | 24          |                   | 24          |                   | 36          |                   | 50          |                   | 36          |                   | 50          |                   | 50           |                   | 50          |                   |
|---------------------------|----------------------------------------------------------------|---------------------|-------------|-------------------|-------------|-------------------|-------------|-------------------|-------------|-------------------|-------------|-------------------|-------------|-------------------|--------------|-------------------|-------------|-------------------|
|                           |                                                                |                     | t           | H <sub>rel.</sub> | t           | H <sub>rel.</sub> | t           | H <sub>rel.</sub> | t           | H <sub>rel.</sub> | t           | H <sub>rel.</sub> | t           | H <sub>rel.</sub> | t            | H <sub>rel.</sub> | t           | H <sub>rel.</sub> |
| Hyperventilation          | x<br>s <sub>x</sub>                                            | x<br>s <sub>x</sub> | 74<br>± 12  | 10/10<br>± 15     | 78<br>± 15  | 10/10<br>± 15     | 76<br>± 10  | 18/10<br>± 4      | 69<br>± 4   | 10/10<br>± 4      | 65<br>± 13  | 10/10<br>± 16     | 72<br>± 16  | 10/10<br>± 10     | 64<br>± 10   | 10/10<br>± 10     | 77<br>± 12  | 10/10<br>± 10     |
|                           |                                                                |                     | 100<br>± 16 | 10/10<br>± 17     | 112<br>± 17 | 10/10<br>± 17     | 100<br>± 15 | 10/10<br>± 17     | 84<br>± 17  | 10/10<br>± 17     | 98<br>± 13  | 10/10<br>± 13     | 98<br>± 17  | 10/10<br>± 14     | 92<br>± 14   | 10/10<br>± 14     | 97<br>± 11  | 10/10<br>± 11     |
| Tonisch-klonische Krämpfe | x<br>s <sub>x</sub>                                            | x<br>s <sub>x</sub> | 122<br>± 21 | 10/10<br>± 21     | 140<br>± 21 | 10/10<br>± 21     | 124<br>± 23 | 10/10<br>± 23     | 122<br>± 21 | 10/10<br>± 21     | 122<br>± 20 | 10/10<br>± 20     | 122<br>± 26 | 10/10<br>± 23     | 130<br>± 23  | 10/10<br>± 23     | 122<br>± 15 | 10/10<br>± 15     |
|                           |                                                                |                     | 173<br>± 42 | 8/10<br>± 42      | 176<br>± 31 | 5/10<br>± 31      | 184<br>± 48 | 9/10<br>± 63      | 188<br>± 63 | 9/10<br>± 63      | 187<br>± 52 | 9/10<br>± 52      | 171<br>± 39 | 8/10<br>± 48      | 179<br>± 48  | 10/10<br>± 48     | 179<br>± 40 | 7/10<br>± 40      |
| Atemstillstand            | x<br>s <sub>x</sub>                                            | x<br>s <sub>x</sub> | 192<br>± 33 | 10/10<br>± 33     | 203<br>± 36 | 10/10<br>± 36     | 189<br>± 50 | 10/10<br>± 50     | 200<br>± 36 | 10/10<br>± 36     | 185<br>± 43 | 10/10<br>± 43     | 178<br>± 31 | 10/10<br>± 36     | 203<br>± 36  | 10/10<br>± 36     | 205<br>± 35 | 10/10<br>± 35     |
|                           |                                                                |                     | 215<br>± 27 | 8/10<br>± 27      | 214<br>± 19 | 5/10<br>± 19      | 239<br>± 40 | 8/10<br>± 40      | 241<br>± 35 | 9/10<br>± 35      | 225<br>± 32 | 9/10<br>± 32      | 203<br>± 28 | 8/10<br>± 47      | 213<br>± 47  | 10/10<br>± 47     | 218<br>± 30 | 7/10<br>± 30      |
| Schnappströmung           | x<br>s <sub>x</sub>                                            | x<br>s <sub>x</sub> | 293<br>± 42 | 5/10<br>± 42      | 282<br>± 45 | 5/10<br>± 45      | 341<br>± 90 | 8/10<br>± 37      | 302<br>± 37 | 4/10<br>± 37      | 310<br>± 35 | 4/10<br>± 35      | 244<br>± 44 | 5/10<br>± 98      | 332<br>± 98  | 6/10<br>± 98      | 296<br>± 36 | 7/10<br>± 36      |
|                           |                                                                |                     | 370<br>± 64 | 9/10<br>± 64      | 348<br>± 80 | 9/10<br>± 80      | 393<br>± 86 | 10/10<br>± 62     | 353<br>± 62 | 9/10<br>± 62      | 370<br>± 97 | 10/10<br>± 97     | 294<br>± 83 | 10/10<br>± 99     | 404<br>± 99  | 10/10<br>± 99     | 410<br>± 95 | 8/10<br>± 95      |
| Tonisch-klonische Krämpfe | x<br>s <sub>x</sub>                                            | x<br>s <sub>x</sub> | 604<br>± 83 | 10/10<br>± 83     | 527<br>± 82 | 10/10<br>± 82     | 652<br>± 97 | 6/10<br>± 89      | 597<br>± 89 | 6/10<br>± 89      | 719<br>± 78 | 8/10<br>± 78      | 653<br>± 98 | 8/10<br>± 178     | 496<br>± 178 | 6/10<br>± 178     | 580<br>± 91 | 8/10<br>± 91      |
|                           |                                                                |                     | 527<br>± 82 | 10/10<br>± 82     | 527<br>± 82 | 10/10<br>± 82     | 652<br>± 97 | 6/10<br>± 89      | 597<br>± 89 | 6/10<br>± 89      | 719<br>± 78 | 8/10<br>± 78      | 653<br>± 98 | 8/10<br>± 178     | 496<br>± 178 | 6/10<br>± 178     | 580<br>± 91 | 8/10<br>± 91      |
| Aufsetzversuch            | x<br>s <sub>x</sub>                                            | x<br>s <sub>x</sub> | 604<br>± 83 | 10/10<br>± 83     | 527<br>± 82 | 10/10<br>± 82     | 652<br>± 97 | 6/10<br>± 89      | 597<br>± 89 | 6/10<br>± 89      | 719<br>± 78 | 8/10<br>± 78      | 653<br>± 98 | 8/10<br>± 178     | 496<br>± 178 | 6/10<br>± 178     | 580<br>± 91 | 8/10<br>± 91      |
|                           |                                                                |                     | 527<br>± 82 | 10/10<br>± 82     | 527<br>± 82 | 10/10<br>± 82     | 652<br>± 97 | 6/10<br>± 89      | 597<br>± 89 | 6/10<br>± 89      | 719<br>± 78 | 8/10<br>± 78      | 653<br>± 98 | 8/10<br>± 178     | 496<br>± 178 | 6/10<br>± 178     | 580<br>± 91 | 8/10<br>± 91      |

Tab. 5:  
Vergiftungssymptome bei Hunden nach oraler Gabe verschiedener Dosen Kaliumcyanid und die darauffolgenden Entgiftungssymptome nach intravenöser Injektion von 4-Dimethylaminphenol, sowie ggf. Natriumbiosulfat.  
Die Kaliumcyanid- und die Antidotosen sind in mg/kg KG angegeben.  
Die Symptome sind in zeitlicher Reihenfolge dargestellt. Die Zeit (t) ist in Sekunden angegeben.  
H<sub>rel.</sub> = relative Häufigkeit der reagierenden Tiere.



Aus Tabelle 5 geht hervor, daß die Blausäurevergiftung in den ersten 10 Minuten nach der Kaliumcyanidverabreichung bei allen Hunden und Versuchsanordnungen ohne wesentliche Unterschiede verläuft.

Der Tabelle läßt sich weiter entnehmen, daß durchschnittlich nach  $72 \pm 13$  Sekunden Hyperventilation, nach  $98 \pm 15$  Sekunden tonisch-klonische Krämpfe, nach  $126 \pm 22$  Sekunden Opisthotonus und nach  $178 \pm 46$  Sekunden Atemstillstand eintritt.

Unmittelbar vor oder während des Atemstillstandes, d.h.  $196 \pm 38$  Sekunden nach Verabreichung des Kaliumcyanids, wurde 4-Dimethylaminophenol verabreicht, worauf die eben genannten Vergiftungssymptome in umgekehrter Reihenfolge - Schnappatmung  $27 \pm 9$ , Opisthotonus  $110 \pm 61$  und tonisch-klonische Krämpfe  $172 \pm 93$  Sekunden nach der Applikation des Antidots - auftraten.

Die ersten Aufstehversuche erfolgten durchschnittlich  $412 \pm 243$  Sekunden nach der Zufuhr des 4-Dimethylaminophenols.

Nach Überwindung der in Tabelle 5 aufgezeigten Krampf- und Entkrampfungsstadien in den ersten 10 Minuten nach der Verabreichung von Kaliumcyanid waren folgende Symptome für die Reaktion der Versuchstiere während der Behandlung der Blausäurevergiftung mit 4-Dimethylaminophenol charakteristisch:

- a) Wiedergewonnene koordinierte Motorik,
- b) zum zweiten Mal auftretende tonisch-klonische Krämpfe  
(hier erfolgte eine erneute i.v.-Injektion von 1,25 bzw. 2,5 bzw. 3,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg,
- c) zum zweiten Mal wiedergewonnene koordinierte Motorik und
- d) wiedererlangter Normalzustand.

Bei Versuchsanordnung I verlief die Entgiftungsphase nahezu gleich. Jedoch mußte den Hunden, die mit 2,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg behandelt wurden, jeweils zwei Mal die Hälfte der Anfangsdosis nach 40 bzw. 120 Minuten injiziert werden, wogegen bei einer Gabe von 5 mg 4-DMAP-HCl/kg eine einmalige Wiederholungsinjektion von 2,5 mg 4-DMAP-HCl/kg nach 40 Mi-

nuten ausreichte.

Bei Versuchsanordnung II und III ergaben sich bei den Symptomen, die die Entgiftungsphase bestimmten, im zeitlichen Ablauf ebenfalls keine Unterschiede. Die Tiere, die mit den hohen Dosen Kaliumcyanid (36 bzw. 50 mg/kg) vergiftet wurden, mußten jedoch 2 - 3 Mal mit der Hälfte der Anfangsdosis nachinjiziert werden.

Bei Versuchsanordnung IV wiesen die mit 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg behandelten Tiere eine signifikant schnellere Symptomfolge auf, als die mit 7 mg 4-DMAP-HCl/kg behandelten Hunde. Der Normalzustand der Versuchstiere trat bei Verabreichung der niedrigeren 4-Dimethylaminophenol-Dosis schon nach 90 Minuten ein, nach Gabe von 7 mg 4-DMAP-HCl/kg erholten sich die Tiere dagegen erst nach durchschnittlich 235 Minuten ( $p < 0,025$ ).

### 2.2.3. Ferrohämoglobin-, Ferrihämoglobin- und Ferrihämoglobincyanidanteil des Blutes

Außer der Feststellung des zeitlichen Ablaufs der Symptome wurden bei den Versuchstieren Ferrohämoglobin-, Ferrihämoglobin- und Ferrihämoglobincyanid gemessen. Aus den Meßwerten ergab sich - neben der Erfassung der Vergiftungssymptome - die Indikation bzw. der Zeitpunkt für eine wiederholte Gabe von 4-Dimethylaminophenol und ggf. Natriumthiosulfat. Beide Substanzen wurden in halber Anfangsdosis dann nachinjiziert, wenn die Ferrihämoglobinkonzentration auf etwa 10% abgefallen und Ferrohämoglobin auf 50 - 60% angestiegen war.

#### 2.2.3.1. Versuchsanordnung I

##### 2.2.3.1.1. Ferrohämoglobin

Die Konzentration an Ferrohämoglobin ist bei der Behandlung blausäurevergifteter Tiere mit 4-Dimethylaminophenol von großer Wichtigkeit, weil ein Anteil von wenigstens 30 - 40% funktionstüchtigem Ferrohämoglobin zur Aufrechterhaltung der Sauerstoffversorgung der Gewebe notwendig ist (9).

In folgendem wird untersucht, ob sich der Ferrohämoglobinanteil bei den in Versuchsanordnung I gewählten verschiedenen 4-Dimethylaminophenol-Dosen unterscheidet. Die Meßergebnisse sind in Tabelle 6 und Abbildung 6 dargestellt und miteinander verglichen.

Es zeigt sich, daß jede intravenöse Gabe von 4-Dimethylaminophenol einen deutlichen Abfall des Ferrohämoglobins bewirkt. Bei Gabe der höheren Dosis von 4-Dimethylaminophenol (5 mg/kg) sinkt der Ferrohämoglobinanteil tiefer ab, als nach intravenöser Injektion von 2,5 mg 4-DMAP-HCl/kg. 57 Minuten nach Gabe des Antidots ist der niedrigste Gehalt an Ferrohämoglobin zu verzeichnen. Zu diesem Zeitpunkt sind nach Verabreichung von 5 mg 4-DMAP-HCl/kg noch 38%, und nach Gabe von 2,5 mg 4-DMAP-HCl/kg 51,4% des gesamten Ferrohämoglobins vorhanden.

Das Ferrohämoglobin unterscheidet sich nach intravenöser Gabe der beiden angegebenen 4-DMAP-Dosen bei einer Kaliumcyanidbelastung von je 24 mg/kg bei vier von fünf gemessenen Werten signifikant voneinander (Tab. 6).

| min nach<br>KCN-<br>Gabe | mg 4-DMAP-HCl/kg                                                  |                           |     |                           |        |
|--------------------------|-------------------------------------------------------------------|---------------------------|-----|---------------------------|--------|
|                          | 2,5                                                               |                           | 5,0 |                           | p <    |
|                          | n                                                                 | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ | n   | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ |        |
| 20                       | 9                                                                 | 63,3 $\pm$ 1,9            | 10  | 49,2 $\pm$ 2,9            | 0,0005 |
| 40                       | 10                                                                | 64,1 $\pm$ 1,7            | 9   | 60,6 $\pm$ 2,1            | n s    |
| 40                       | Injektion von 1,25 bzw. 2,5 mg 4-Dimethyl-aminophenol-HCl/kg i.v. |                           |     |                           |        |
| 60                       | 10                                                                | 51,4 $\pm$ 2,2            | 9   | 38,0 $\pm$ 2,2            | 0,0005 |
| 80                       | 7                                                                 | 59,1 $\pm$ 2,1            | 6   | 46,9 $\pm$ 3,0            | 0,005  |
| 100                      | 10                                                                | 61,8 $\pm$ 2,7            | 7   | 50,2 $\pm$ 3,1            | 0,01   |

Tab. 6: Ferrohämoglobinkonzentrationen in Hunden nach oraler Gabe von 24 mg Kaliumcyanid/kg und 2,5 bzw. 5,0 mg 4-Dimethylamino-phenol-HCl/kg i.v.

Angaben der Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standard-Error ( $s_{\bar{x}}$ ).

Statistische Auswertung mit Hilfe des t-Testes ( $p <$ ).

Die Mittelwerte der Tabelle 6 sind in Abbildung 6 veranschaulicht.

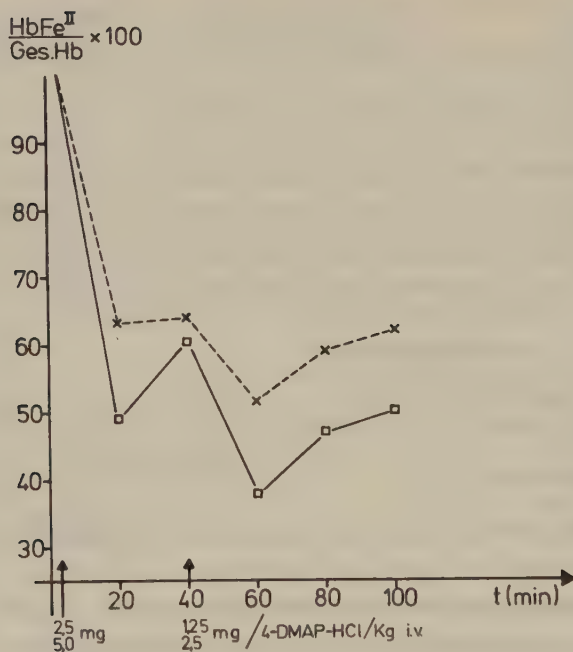


Abb.:6

Abb. 6: Ferrohämoglobinkonzentrationen in Hunden nach oraler Gabe Gabe von 24 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 2,5 bzw. 5,0 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg 3 Minuten nach der KCN-Gabe. 40 Minuten danach erfolgte eine i.v.-Injektion der halben Anfangsdosis des 4-Dimethylaminophenols.

X 2,5 mg 4-DMAP-HCl/kg i.v.

□ 5 mg 4-DMAP-HCl/kg i.v.

### 2.2.3.1.2. Ferrihämoglobin

Unter dem in folgendem dargestellten noch freiem Anteil an Ferrihämoglobin wird die Konzentration des durch 4-Dimethylaminophenol oxidierten und nicht an Cyanid gebundenen Ferrihämoglobins im Blut der Versuchstiere verstanden.

Tabelle 7 und Abbildung 7 zeigen, daß nach jeder Gabe von 4-Dimethylaminophenol der noch freie Anteil an Ferrihämoglobin rasch ansteigt. Nach Gabe von 5 mg 4-DMAP-HCl/kg ist ein signifikant höherer (in vier von fünf Meßwerten) mit Cyanid unbesetzter Anteil an Ferrihämoglobin vorhanden, als bei intravenöser Injektion von 2,5 mg 4-DMAP-HCl/kg. Der Verlauf der Ferrihämoglobinkonzentrationen ist gegensinnig zu dem des zuvor aufgezeigten Ferrohämoglobins. Nachdem dort nach 57 Minuten der niedrigste Ferrohämoglobinanteil erreicht worden war, ist hier zu der gleichen Zeit die höchste Ferrihämoglobinkonzentration zu verzeichnen.

| min nach<br>KCN-<br>Gabe | mg 4-DMAP-HCl/kg                                                 |                           |     |                           |        |
|--------------------------|------------------------------------------------------------------|---------------------------|-----|---------------------------|--------|
|                          | 2,5                                                              |                           | 5,0 |                           | p <    |
|                          | n                                                                | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ | n   | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ |        |
| 20                       | 10                                                               | 21,5 $\pm$ 3,0            | 10  | 29,6 $\pm$ 3,1            | 0,25   |
| 40                       | 9                                                                | 11,8 $\pm$ 1,9            | 9   | 11,9 $\pm$ 1,4            | n s    |
| 40                       | Injektion von 1,25 bzw. 2,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg i.v. |                           |     |                           |        |
| 60                       | 10                                                               | 21,3 $\pm$ 1,7            | 9   | 32,7 $\pm$ 3,2            | 0,0005 |
| 80                       | 8                                                                | 15,6 $\pm$ 1,1            | 6   | 24,9 $\pm$ 3,1            | 0,005  |
| 100                      | 7                                                                | 9,7 $\pm$ 1,6             | 7   | 21,5 $\pm$ 3,6            | 0,0025 |

Tab. 7: Ferrihämoglobinkonzentrationen in Hunden nach Gabe von 24 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 2,5 bzw. 5,0 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg.

Angaben der Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standard-Error ( $s_{\bar{x}}$ ).

Statistische Auswertung mit Hilfe des t-Testes ( $p <$ ).

Die Mittelwerte der Tabelle 7 sind in Abbildung 7 veranschaulicht.



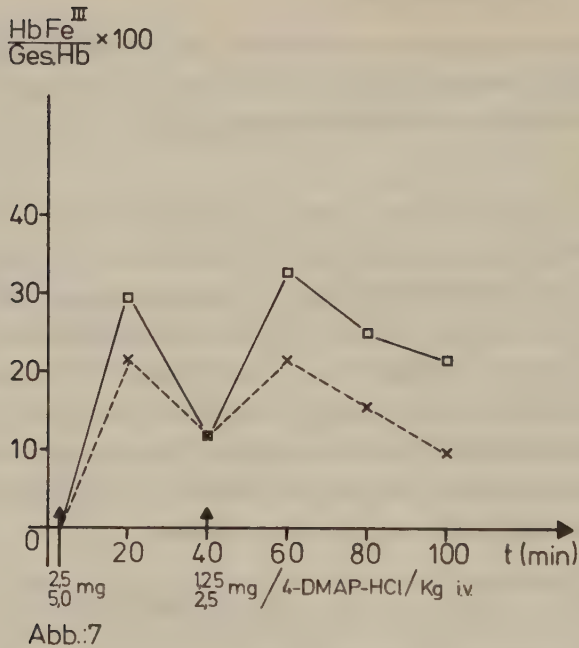


Abb. 7: Ferrihämoglobinkonzentrationen in Hunden nach oraler Gabe von 24 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 2,5 bzw. 5,0 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg 3 Minuten nach der KCN-Gabe. 40 Minuten danach erfolgte eine intravenöse Injektion der halben Anfangsdosis des 4-Dimethylaminophenols.

- X      2,5 mg 4-DMAP-HCl/kg  
□      5,0 mg 4-DMAP-HCl/kg

#### 2.2.3.1.3. Ferrihämoglobin-Cyanid

Die Untersuchung der Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentrationen im Blut der Versuchstiere gibt über den Umfang der Cyanidbindung an Ferrihämoglobin und damit über die Inaktivierung des resorbierten Cyanids Aufschluß. Dabei interessiert sowohl der zeitliche Verlauf der Cyanidbindung als auch deren Abhängigkeit von der 4-DMAP-Dosis. Die Beantwortung beider Fragen läßt sich aus Tabelle 8 bzw. Abbildung 8 entnehmen.

Obwohl sich die Ferrohämoglobin- und die Ferrihämoglobinkonzentrationen bei einer Vergiftung mit 24 mg KCN/kg zu fast allen Zeitpunkten signifikant unterscheiden, bilden sich nach Gabe von 2,5 bzw. 5,0 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg nahezu gleiche Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentrationen. Nach rascher Zunahme des Komplexes nach Gabe des 4-DMAP erreicht dieser die höchste Konzentration 57 Minuten nach Gabe des 4-Dimethylaminophenols. Ab diesem Zeitpunkt bleibt die erreichte maximale Konzentration bei beiden 4-Dimethylaminophenol-Dosen bestehen. Nach wiederholter Gabe von 4-DMAP läßt sich keine Konzentrationsänderung des Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplexes feststellen, im Gegensatz zum Verlauf der Ferrohämoglobin- und der Ferrihämoglobinkonzentrationen.

| min nach<br>KCN-<br>Gabe | mg 4-DMAP-HCl/kg                                                 |                           |     |                           |      |
|--------------------------|------------------------------------------------------------------|---------------------------|-----|---------------------------|------|
|                          | 2,5                                                              |                           | 5,0 |                           | p<   |
|                          | n                                                                | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ | n   | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ |      |
| 20                       | 8                                                                | $18,8 \pm 2,3$            | 10  | $21,3 \pm 2,8$            | n s  |
| 40                       | 10                                                               | $23,5 \pm 1,5$            | 9   | $27,5 \pm 1,6$            | 0,05 |
| 40                       | Injektion von 1,25 bzw. 2,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg i.v. |                           |     |                           |      |
| 60                       | 10                                                               | $27,3 \pm 2,3$            | 9   | $29,2 \pm 2,5$            | n s  |
| 80                       | 7                                                                | $27,1 \pm 2,0$            | 6   | $28,2 \pm 2,8$            | n s  |
| 100                      | 10                                                               | $26,4 \pm 2,0$            | 7   | $28,3 \pm 2,5$            | n s  |

Tab. 8: Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentrationen in Hunden nach oraler Gabe von 24 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 2,5 bzw. 5,0 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg.

Angaben der Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standard-Error ( $s_{\bar{x}}$ ).  
Statistische Auswertung mit Hilfe des t-Testes ( $p <$ ).

Die Mittelwerte der Tabelle 8 sind in Abbildung 8 veranschaulicht.

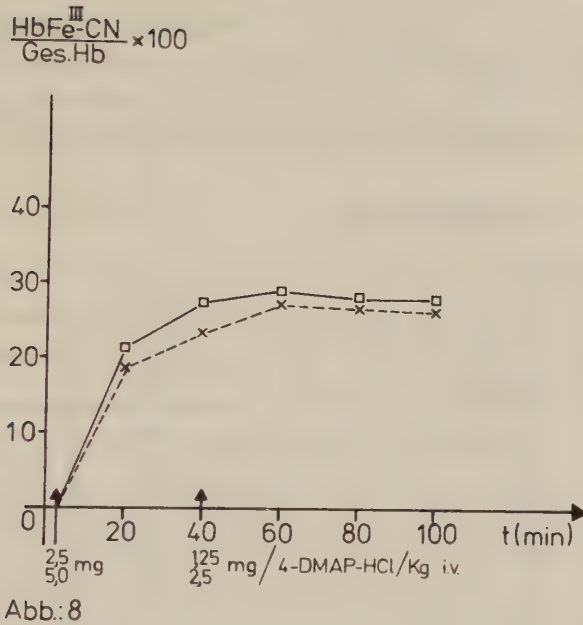


Abb. 8: Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentrationen in Hunden nach oraler Gabe von 24 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 2,5 bzw. 5,0 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg 3 Minuten nach der Verabreichung des Kaliumcyanids. 40 Minuten nach der Kaliumcyanid-Gabe erfolgte eine i.v.-Injektion der halben Anfangsdosis des 4-Dimethylaminophenols.

X 2,5 mg 4-DMAP-HCl/kg i.v.

□ 5,0 mg 4-DMAP-HCl/kg i.v.

### 2.2.3.2. Versuchsanordnung II

In folgendem wird untersucht, ob sich die Ferrohämoglobin-, Ferrihämoglobin- und Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentrationen nach i. v. Verabreichung von 5,0 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg bei den in Versuchsanordnung II gewählten verschiedenen Kaliumcyanid-Dosen unterscheiden.

#### 2.2.3.2.1. Ferrohämoglobin

| min nach<br>KCN-<br>Gabe                                       | mg KCN/kg |                           |    |                           |    |                           |
|----------------------------------------------------------------|-----------|---------------------------|----|---------------------------|----|---------------------------|
|                                                                | 24        |                           | 36 |                           | 50 |                           |
|                                                                | n         | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ | n  | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ | n  | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ |
| 20                                                             | 10        | 49,2 $\pm$ 2,9            | 10 | 57,6 $\pm$ 2,6            | 10 | 52,2 $\pm$ 2,7            |
| 40                                                             | 9         | 60,6 $\pm$ 2,1            | 10 | 58,6 $\pm$ 3,4            | 10 | 52,8 $\pm$ 2,3            |
| 40 Injektion von 2,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg KG i. v.  |           |                           |    |                           |    |                           |
| 60                                                             | 9         | 38,0 $\pm$ 2,2            | 10 | 43,2 $\pm$ 2,6            | 10 | 35,9 $\pm$ 2,2            |
| 80                                                             | 6         | 46,9 $\pm$ 3,0            | 9  | 49,9 $\pm$ 3,4            | 6  | 46,9 $\pm$ 3,6            |
| 100                                                            | 7         | 50,2 $\pm$ 3,1            | 6  | 55,2 $\pm$ 3,2            |    |                           |
| 120                                                            |           |                           | 7  | 59,4 $\pm$ 3,8            | 7  | 51,8 $\pm$ 3,0            |
| 120 Injektion von 2,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg KG i. v. |           |                           |    |                           |    |                           |
| 140                                                            |           |                           | 6  | 41,5 $\pm$ 4,1            | 7  | 36,2 $\pm$ 3,1            |
| 360                                                            |           |                           | 4  | 80,1 $\pm$ 1,8            | 4  | 57,6 $\pm$ 5,7            |

Tab. 9: Ferrohämoglobinkonzentrationen in Hunden nach Gabe von 24, 36 bzw. 50 mg Kaliumcyanid/kg per os und intravenöser Injektion von 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg.

Angaben der Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standard-Error ( $s_{\bar{x}}$ ).

Statistische Auswertung mit Hilfe des t-Testes in Tabelle 10.

| min nach<br>KCN-<br>Gabe | mg KCN/kg | mg KCN/kg |          |
|--------------------------|-----------|-----------|----------|
|                          |           | 24        | 36       |
| 20                       | 36        | 0,025     | //////// |
|                          | 50        | ns        | ns       |
| 40                       | 36        | ns        | //////// |
|                          | 50        | 0,0125    | ns       |
| 60                       | 36        | ns        | //////// |
|                          | 50        | ns        | 0,05     |
| 80                       | 36        | ns        | //////// |
|                          | 50        | ns        | ns       |
| 100                      | 36        | ns        | //////// |
|                          | 50        |           |          |
| 120                      | 36        |           | //////// |
|                          | 50        |           | ns       |
| 140                      | 36        |           | //////// |
|                          | 50        |           | ns       |
| 360                      | 36        |           | //////// |
|                          | 50        |           | 0,005    |

Tab. 10: Statistische Auswertung der in Tabelle 9 angegebenen Mittelwerte mit Hilfe des t-Testes ( $p <$ ).

Unterschied des Gehalts an Ferrohämoglobin in Hunden nach i.v.-Gabe von 5,0 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg zu den jeweils angegebenen Zeitpunkten nach oraler Gabe verschiedener Kaliumcyanid-Dosen, die folgendermaßen verglichen werden:

24 und 36 mg KCN/kg (3.Spalte und 2. Spalte)  
24 und 50 mg KCN/kg



Tabelle 9 und Abbildung 9 zeigen, daß die Ferrohämoglobinkonzentrationen des Blutes in Hunden nach jeder Verabreichung des 4-Dimethylaminophenols stark abfallen. Trotz Bildung gleicher Ferrihämoglobinkonzentrationen nach intravenöser Injektion von 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg bleibt bei unterschiedlicher Kaliumcyanid-Dosierung um so weniger Ferrohämoglobin zur Verfügung, je mehr Kaliumcyanid verabreicht wurde.

Die geringsten Ferrohämoglobinwerte liegen nach Gabe von 50 mg Kaliumcyanid/kg bei 36% des gesamten Ferrohämoglobins.

Signifikante Unterschiede treten bei vier von sechszehn Meßwerten auf (Tab. 10).

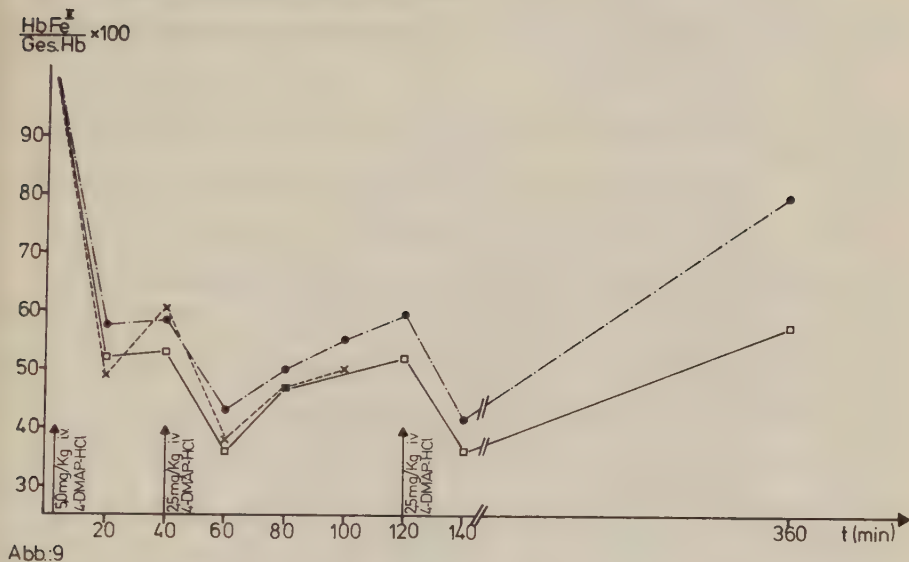


Abb. 9: Ferrohämoglobinkonzentrationen in Hunden nach oraler Gabe von 24, 36 bzw. 50 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg 3 Minuten nach Verabreichung des Kaliumcyanids. 40 und 120 Minuten nach der Kaliumcyanid-Gabe erfolgte eine i.v.-Injektion der halben Anfangsdosis des 4-Dimethylaminophenols.

- X 24 mg KCN/kg per os
- 36 mg KCN/kg per os
- 50 mg KCN/kg per os

### 2.2.3.2.2. Ferrihämoglobin

Die Konzentrationen des freien Anteils an Ferrihämoglobin sind in Tabelle 11 zusammengestellt, in Tabelle 12 statistisch ausgewertet und in Abbildung 10 veranschaulicht.

| min nach<br>KCN-<br>Gabe                                      | mg KCN/kg |                           |    |                           |    |                           |
|---------------------------------------------------------------|-----------|---------------------------|----|---------------------------|----|---------------------------|
|                                                               | 24        |                           | 36 |                           | 50 |                           |
|                                                               | n         | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ | n  | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ | n  | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ |
| 20                                                            | 10        | 29,6 $\pm$ 3,1            | 10 | 19,1 $\pm$ 1,9            | 10 | 19,2 $\pm$ 2,1            |
| 40                                                            | 9         | 11,9 $\pm$ 1,4            | 10 | 10,2 $\pm$ 2,2            | 10 | 7,3 $\pm$ 0,7             |
| 40 Injektion von 2,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg KG i.v.  |           |                           |    |                           |    |                           |
| 60                                                            | 9         | 32,7 $\pm$ 3,2            | 10 | 24,7 $\pm$ 2,2            | 10 | 19,7 $\pm$ 1,5            |
| 80                                                            | 6         | 24,9 $\pm$ 3,1            | 9  | 17,9 $\pm$ 2,4            | 6  | 16,8 $\pm$ 2,2            |
| 100                                                           | 7         | 21,5 $\pm$ 3,6            | 6  | 15,9 $\pm$ 2,9            |    |                           |
| 120                                                           |           |                           | 7  | 10,5 $\pm$ 0,9            | 7  | 10,4 $\pm$ 1,9            |
| 120 Injektion von 2,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg KG i.v. |           |                           |    |                           |    |                           |
| 140                                                           |           |                           | 6  | 26,7 $\pm$ 1,4            | 7  | 26,9 $\pm$ 3,3            |
| 360                                                           |           |                           | 4  | 7,2 $\pm$ 1,5             | 4  | 11,6 $\pm$ 3,6            |

Tab. 11: Ferrihämoglobinkonzentrationen in Hunden nach Gabe von 24, 36 bzw. 50 mg Kaliumcyanid/kg per os und intravenöser Injektion von 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg.

Angaben der Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standard-Error ( $s_{\bar{x}}$ ).

Die statistische Auswertung mit Hilfe des t-Testes erfolgt in Tabelle 12.

| min nach<br>KCN-<br>Gabe | mg KCN/kg | mg KCN/kg |          |
|--------------------------|-----------|-----------|----------|
|                          |           | 24        | 36       |
| 20                       | 36        | 0,01      | //////// |
|                          | 50        | 0,01      | ns       |
| 40                       | 36        | ns        | //////// |
|                          | 50        | 0,005     | ns       |
| 60                       | 36        | 0,05      | //////// |
|                          | 50        | 0,0025    | 0,05     |
| 80                       | 36        | 0,05      | //////// |
|                          | 50        | 0,05      | ns       |
| 100                      | 36        | ns        | //////// |
|                          | 50        |           |          |
| 120                      | 36        |           | //////// |
|                          | 50        |           | ns       |
| 140                      | 36        |           | //////// |
|                          | 50        |           | ns       |
| 360                      | 36        |           | //////// |
|                          | 50        |           | ns       |

Tab. 12: Statistische Auswertung der in Tabelle 11 angegebenen Mittelwerte mit Hilfe des t-Testes ( $p \leq$ ).

Unterschied der einzelnen Ferrihämoglobinkonzentrationen in Hunden nach i. v.-Gabe von 5,0 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg zu den jeweils angegebenen Zeitpunkten nach oraler Gabe verschiedener Kaliumcyanid-Dosen, die folgendermaßen verglichen werden:

24 und 36 mg KCN/kg

(3. Spalte und 2. Spalte)

24 und 50 mg KCN/kg

(4. Spalte und 2. Spalte)

36 und 50 mg KCN/kg

Die Ferrihämoglobinkonzentrationen steigen - wie aus Tabelle 11 und Abbildung 10 hervorgeht - nach jeder intravenösen Verabreichung des 4-Dimethylaminophenols deutlich an.

Bei steigenden Dosen Kaliumcyanid verringert sich entsprechend der noch freie Anteil des Ferrihämoglobins, wobei in acht von 16 Meßwerten signifikante Unterschiede auftreten (Tab. 12).

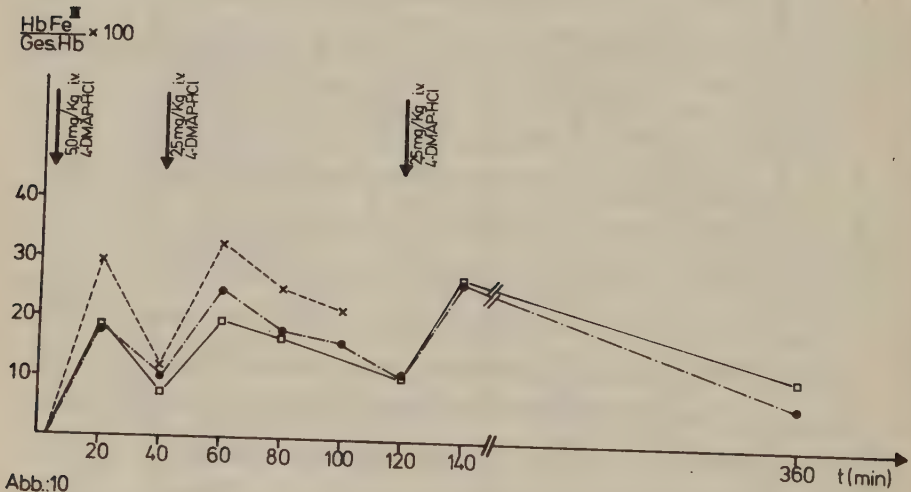


Abb. 10: Ferrihämoglobinkonzentrationen in Hunden nach oraler Gabe von 24, 36 bzw. 50 mg Kaliumcyanid pro kg und intravenöser Gabe von 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg 3 Minuten nach Verabreichung des Kaliumcyanids. 40 und 120 Minuten nach der Kaliumcyanid-Gabe erfolgte eine i.v.-Injektion der halben Anfangsdosis des 4-Dimethylaminophenols.

- × 24 mg KCN/kg per os
- 36 mg KCN/kg per os
- 50 mg KCN/kg per os

### 2.2.3.2.3. Ferrihämoglobin-Cyanid

Die Konzentration des Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplexes sind in Tabelle 13 zusammengestellt, in Tabelle 14 statistisch ausgewertet und in Abbildung 11 graphisch dargestellt.

| min nach<br>KCN-<br>Gabe                                      | mg KCN/kg |                           |    |                           |    |                           |
|---------------------------------------------------------------|-----------|---------------------------|----|---------------------------|----|---------------------------|
|                                                               | 24        |                           | 36 |                           | 50 |                           |
|                                                               | n         | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ | n  | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ | n  | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ |
| 20                                                            | 10        | 21,3 $\pm$ 2,8            | 10 | 23,7 $\pm$ 2,1            | 10 | 28,6 $\pm$ 2,6            |
| 40                                                            | 9         | 27,5 $\pm$ 1,6            | 10 | 31,5 $\pm$ 2,7            | 10 | 40,0 $\pm$ 2,4            |
| 40 Injektion von 2,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg KG i.v.  |           |                           |    |                           |    |                           |
| 60                                                            | 9         | 29,2 $\pm$ 2,5            | 10 | 34,0 $\pm$ 3,2            | 10 | 44,4 $\pm$ 2,9            |
| 80                                                            | 6         | 28,2 $\pm$ 2,8            | 9  | 35,6 $\pm$ 4,1            | 6  | 36,3 $\pm$ 3,5            |
| 100                                                           | 7         | 28,3 $\pm$ 2,5            | 6  | 28,9 $\pm$ 4,6            |    |                           |
| 120                                                           |           |                           | 7  | 30,1 $\pm$ 4,3            | 7  | 37,8 $\pm$ 1,9            |
| 120 Injektion von 2,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg KG i.v. |           |                           |    |                           |    |                           |
| 140                                                           |           |                           | 6  | 32,1 $\pm$ 3,6            | 7  | 36,9 $\pm$ 3,2            |
| 360                                                           |           |                           | 4  | 12,7 $\pm$ 1,2            | 4  | 31,7 $\pm$ 6,5            |

Tab. 13: Konzentrationen des Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplexes nach Gabe von 24, 36 bzw. 50 mg Kaliumcyanid/kg per os und intravenöser Gabe von 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg.

Angaben der Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standard-Error ( $s_{\bar{x}}$ ).

Statistische Auswertung mit Hilfe des t-Testes in Tabelle 14.



| min nach<br>KCN-<br>Gabe | mg KCN/kg | mg KCN/kg |          |
|--------------------------|-----------|-----------|----------|
|                          |           | 24        | 36       |
| 20                       | 36        | ns        | //////// |
|                          | 50        | 0,05      | ns       |
| 40                       | 36        | ns        | //////// |
|                          | 50        | 0,0005    | 0,025    |
| 60                       | 36        | ns        | //////// |
|                          | 50        | 0,0025    | 0,025    |
| 80                       | 36        | ns        | //////// |
|                          | 50        | ns        | ns       |
| 100                      | 36        | ns        | //////// |
|                          | 50        |           |          |
| 120                      | 36        |           | //////// |
|                          | 50        |           | ns       |
| 140                      | 36        |           | //////// |
|                          | 50        |           | ns       |
| 360                      | 36        |           | //////// |
|                          | 50        |           | 0,0125   |

Tab. 14: Statistische Auswertung der in Tabelle 13 angegebenen Mittelwerte mit Hilfe des t-Testes ( $p <$ ).

Unterschied des Gehalts an Ferrihämoglobin-Cyanid in Hunden nach intravenöser Injektion von 5,0 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg zu den jeweils angegebenen Zeitpunkten nach oraler Gabe verschiedener Kaliumcyanid-Dosen, die folgendermaßen verglichen werden:

- 24 und 36 mg KCN/kg (3. Spalte und 2. Spalte)  
 24 und 50 mg KCN/kg (3. Spalte und 2. Spalte)  
 36 und 50 mg KCN/kg (4. Spalte und 2. Spalte)

In den ersten 60 - 80 Minuten nach Gabe des 4-Dimethylaminophenols zeichnet sich unabhängig von der verabreichten Cyaniddosis eine stete Zunahme des Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplexes ab.

Die halbmaximale Komplexbildung wird bei jeder der drei verabreichten Kaliumcyaniddosen nach etwa 15 Minuten, die maximale nach 60 - 80 Minuten erreicht. Ab diesem Zeitpunkt ändern sich trotz nochmaliger Gabe von 2,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl pro kg die Konzentrationen nur noch unwesentlich. Sie verhalten sich proportional zu den verabreichten Kaliumcyaniddosen (Tab. 13, Abb. 11) und unterscheiden sich zu sechs von 16 Zeitpunkten signifikant voneinander (Tab. 14).

$\frac{\text{HbFe-CN}}{\text{Ges.Hb}} \times 100$

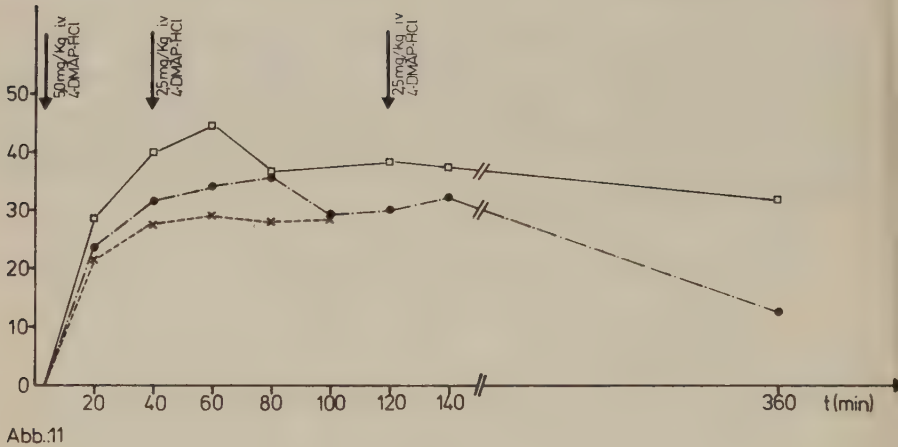


Abb. 11: Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentrationen in Hunden nach oraler Gabe von 24, 36 bzw. 50 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg 3 Minuten nach Verabreichung des Kaliumcyanids. 40 und 120 Minuten nach der Kaliumcyanid-Gabe erfolgte eine i.v.-Injektion der halben Anfangsdosis des 4-Dimethylaminophenols.

- × 24 mg KCN/kg per os
- 36 mg KCN/kg per os
- 50 mg KCN/kg per os

### 2.2.3.3 Versuchsanordnung III

Konzentrationen von Ferrohämoglobin, Ferrihämoglobin und Ferrihämoglobin-Cyanid nach Erhöhung der 4-Dimethylaminophenol-Dosis auf 7 mg/kg KG.

#### 2.2.3.3.1 Ferrohämoglobin

Die Ferrohämoglobinkonzentrationen in Hunden nach intravenöser Verabreichung von 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg nach Gabe von 36 bzw. 50 mg Kaliumcyanid/kg per os sind in Tabelle 15 zusammengefaßt und in Abbildung 12 veranschaulicht.

| min nach<br>KCN-<br>Gabe                                         | mg KCN/kg |                           |    |                           | p <  |
|------------------------------------------------------------------|-----------|---------------------------|----|---------------------------|------|
|                                                                  | 36        |                           | 50 |                           |      |
|                                                                  | n         | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ | n  | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ |      |
| 20                                                               | 10        | 51,4 $\pm$ 2,6            | 10 | 48,2 $\pm$ 3,1            | n s  |
| 40                                                               | 9         | 54,2 $\pm$ 2,1            | 10 | 54,9 $\pm$ 2,0            | n s  |
| 40 Injektion von 3,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg KG<br>i.v.  |           |                           |    |                           |      |
| 60                                                               | 8         | 33,7 $\pm$ 2,3            | 10 | 32,9 $\pm$ 1,9            | n s  |
| 80                                                               | 9         | 40,6 $\pm$ 2,8            | 8  | 39,5 $\pm$ 2,7            | n s  |
| 100                                                              | 4         | 50,0 $\pm$ 2,0            | 3  | 50,4 $\pm$ 5,1            | n s  |
| 120                                                              | 9         | 51,8 $\pm$ 4,3            | 10 | 49,4 $\pm$ 2,2            | n s  |
| 120 Injektion von 3,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg KG<br>i.v. |           |                           |    |                           |      |
| 140                                                              | 6         | 34,4 $\pm$ 2,3            | 9  | 29,2 $\pm$ 1,3            | 0,05 |
| 240                                                              | 5         | 51,8 $\pm$ 4,4            | 5  | 53,2 $\pm$ 3,3            | n s  |
| 360                                                              | 3         | 72,5 $\pm$ 0,5            | 4  | 50,6 $\pm$ 3,4            | 0,01 |

Tab. 15: Ferrohämoglobinkonzentrationen in Hunden nach oraler Gabe von 36 bzw. 50 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg.

Angaben der Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standard-Error ( $s_{\bar{x}}$ ).

Statistische Auswertung mit Hilfe des t-Testes (p <).

Tabelle 15 und Abbildung 12 zeigen einen deutlichen Abfall des Ferrohämoglobins nach jeder intravenösen Gabe von 7 bzw. 3,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg.

Dabei sinkt die Ferrohämoglobinkonzentration bis zu 29,2% des gesamten Ferrohämoglobins ab (140. min nach Gabe von 50 mg KCN/kg) und unterschreitet damit die Minimaltoleranz (2.2.3.1.1.).

Die einzelnen Meßwerte sind in sieben von neun Zeitpunkten nahezu gleich. Somit zeigt die Ferrohämoglobinkonzentration nach intravenöser Gabe von 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg keine wesentlichen Unterschiede mehr bezüglich der Kaliumcyaniddosis.



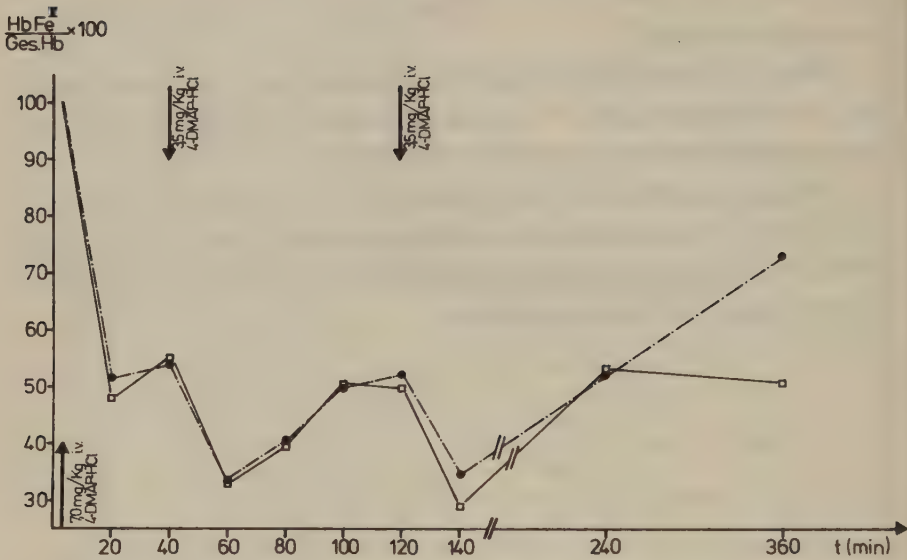


Abb.:12

**Abb. 12:** Ferrohämoglobinkonzentrationen in Hunden nach oraler Gabe von 36 bzw. 50 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg 3 Minuten nach Verabreichung des Kaliumcyanids. 40 und 120 Minuten nach der Kaliumcyanid-Gabe erfolgte eine i.v.-Injektion der halben Anfangsdosis des 4-Dimethylaminophenols.

- 36 mg KCN/kg
- 50 mg KCN/kg

### 2.2.3.3.2 Ferrihämoglobin

Die Konzentrationen des freien Anteils an Ferrihämoglobin sind in Tabelle 16 zusammengefaßt und in Abbildung 13 graphisch dargestellt.

| min nach<br>KCN-<br>Gabe                                         | mg KCN/kg |                           |    |                           | p <  |
|------------------------------------------------------------------|-----------|---------------------------|----|---------------------------|------|
|                                                                  | 36        |                           | 50 |                           |      |
|                                                                  | n         | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ | n  | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ |      |
| 20                                                               | 10        | $23,9 \pm 3,4$            | 10 | $31,0 \pm 3,2$            | n s  |
| 40                                                               | 9         | $8,0 \pm 1,0$             | 10 | $12,9 \pm 1,6$            | 0,01 |
| 40 Injektion von 3,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg<br>KG i.v.  |           |                           |    |                           |      |
| 60                                                               | 8         | $25,2 \pm 2,1$            | 10 | $27,8 \pm 2,0$            | n s  |
| 80                                                               | 9         | $18,9 \pm 2,7$            | 8  | $20,9 \pm 1,9$            | n s  |
| 100                                                              | 4         | $10,3 \pm 2,0$            | 3  | $13,3 \pm 2,8$            | n s  |
| 120                                                              | 9         | $9,7 \pm 2,5$             | 10 | $13,2 \pm 0,9$            | n s  |
| 120 Injektion von 3,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg<br>KG i.v. |           |                           |    |                           |      |
| 140                                                              | 6         | $26,7 \pm 4,3$            | 9  | $32,8 \pm 1,8$            | n s  |
| 240                                                              | 5         | $13,1 \pm 3,1$            | 5  | $10,6 \pm 1,5$            | n s  |
| 360                                                              | 3         | $8,2 \pm 0,6$             | 4  | $11,4 \pm 2,7$            | n s  |

Tab. 16: Ferrihämoglobinkonzentrationen in Hunden nach oraler Gabe von 36 bzw. 50 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg.

Angaben der Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standard-Error ( $s_{\bar{x}}$ ).

Statistische Auswertung mit Hilfe des t-Testes (p <).

Aus Tabelle 16 und Abbildung 13 ist zu entnehmen, daß die noch freien Ferrihämoglobinkonzentrationen - wie in Versuchsanordnung I und II - nach jeder intravenösen Injektion von 7 bzw. 3,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg rasch ansteigen.

Bei gleichartigem Verlauf der Konzentrationen ist aber nach Gabe von 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl pro kg keine exakte Beziehung mehr zur Cyaniddosis festzustellen. Die neun erfaßten Meßwerte weisen in acht Fällen keinen statistisch zu sichernden Unterschied auf.

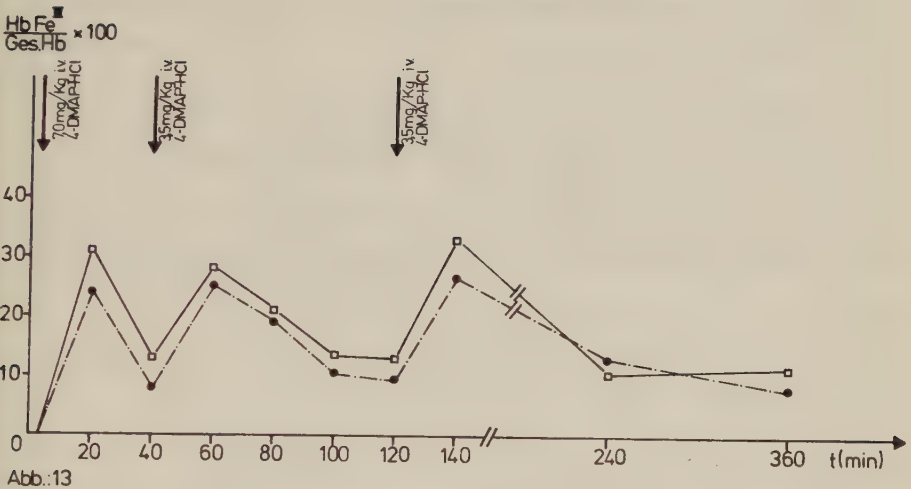


Abb. 13: Ferrihämoglobinkonzentrationen in Hunden nach oraler Gabe von 36 bzw. 50 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg 3 Minuten nach Verabreichung des Kaliumcyanids. 40 und 120 Minuten nach der Kaliumcyanid-Gabe erfolgte eine i.v.-Injektion der halben Anfangsdosis des 4-Dimethylaminophenols.

● 36 mg KCN/kg

□ 50 mg KCN/kg

### 2.2.3.3.3 Ferrihämoglobin-Cyanid

Die Konzentrationen des Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplexes sind in Tabelle 17 zusammengefaßt und statistisch ausgewertet und in Abbildung 14 veranschaulicht.

| min nach<br>KCN-<br>Gabe                                          | mg KCN/kg |                           |    |                           | p <   |
|-------------------------------------------------------------------|-----------|---------------------------|----|---------------------------|-------|
|                                                                   | 36        |                           | 50 |                           |       |
|                                                                   | n         | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ | n  | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ |       |
| 20                                                                | 10        | 24,7 $\pm$ 2,9            | 10 | 20,8 $\pm$ 3,5            | n s   |
| 40                                                                | 9         | 37,7 $\pm$ 1,8            | 10 | 32,2 $\pm$ 1,8            | 0,025 |
| 40 Injektion von 3,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg KG<br>i. v.  |           |                           |    |                           |       |
| 60                                                                | 8         | 41,1 $\pm$ 2,3            | 10 | 39,4 $\pm$ 2,2            | n s   |
| 80                                                                | 9         | 40,6 $\pm$ 2,5            | 8  | 39,7 $\pm$ 2,5            | n s   |
| 100                                                               | 4         | 40,8 $\pm$ 3,6            | 3  | 36,4 $\pm$ 7,0            | n s   |
| 120                                                               | 9         | 38,5 $\pm$ 3,6            | 10 | 37,5 $\pm$ 2,3            | n s   |
| 120 Injektion von 3,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg KG<br>i. v. |           |                           |    |                           |       |
| 140                                                               | 6         | 38,9 $\pm$ 5,2            | 9  | 37,9 $\pm$ 2,4            | n s   |
| 240                                                               | 5         | 35,1 $\pm$ 4,8            | 5  | 36,3 $\pm$ 2,2            | n s   |
| 360                                                               | 3         | 19,3 $\pm$ 0,5            | 4  | 34,0 $\pm$ 4,6            | 0,01  |

Tab. 17: Konzentrationen des Ferrihämoglobin-Cyanids in Hunden nach oraler Gabe von 36 bzw. 50 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg.

Angaben der Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standard-Error ( $s_{\bar{x}}$ ).

Statistische Auswertung mit Hilfe des t-Testes ( $p <$ ).

Nach Gabe von 36 bzw. 50 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg nehmen die Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentrationen - wie bei Versuchsanordnung I und II - bis zur 60. bzw. 80. Minute stetig zu. Die zu diesem Zeitpunkt erreichten maximalen Konzentrationen bleiben auch hier trotz nochmaliger intravenösen Gabe von 3,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg fast unverändert bestehen.

Trotz unterschiedlicher Kaliumcyaniddosen sind hier die Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentrationen bei sieben von neun Meßwerten nahezu gleich. Somit bewirkt eine Erhöhung der Kaliumcyaniddosis bei intravenöser Verabreichung von 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg keine höheren Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentrationen mehr.



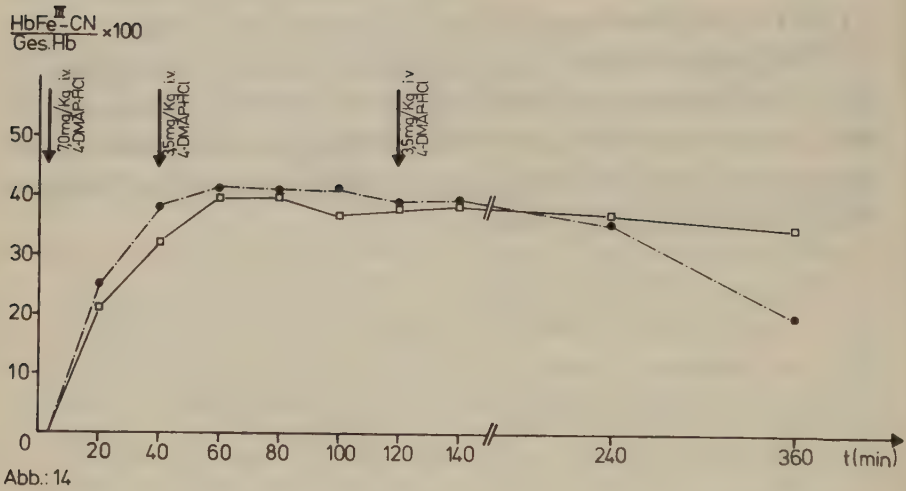


Abb. 14: Konzentrationen des Ferrihämoglobin-Cyanids in Hunden nach oraler Gabe von 36 bzw. 50 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg 3 Minuten nach Verabreichung des Kaliumcyanids. 40 und 120 Minuten nach der Kaliumcyanid-Gabe erfolgte eine i.v.-Injektion der halben Anfangsdosis des 4-Dimethylaminophenols.

- 36 mg KCN/kg
- 50 mg KCN/kg

#### 2.2.3.4 Versuchsanordnung IV

Versuchsanordnung IV unterscheidet sich von den drei vorausgegangenen Anordnungen durch die zusätzliche intravenöse Verabreichung von Natriumthiosulfat. Es ist dadurch eine schnellere Überführung des an Ferrihämoglobin gebundenen Cyanids in relativ ungiftiges und harnfähiges Thiocyanat, d.h. eine schnellere Metabolisierung des Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplexes zu erwarten.

Die Ergebnisse dieser Versuchsanordnung sind in den Tabellen 18, 19 und 20 und den zugehörigen Abbildungen 15, 16 und 17 dargestellt.

2.2.3.4.1 Ferrohämoglobin

| min nach<br>KCN-<br>Gabe                                                                                   | mg 4-DMAP-HCl/kg |                           |    |                           | p <    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------------------------|----|---------------------------|--------|
|                                                                                                            | 5                |                           | 7  |                           |        |
|                                                                                                            | n                | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ | n  | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ |        |
| 20                                                                                                         | 10               | 52,0 $\pm$ 4,2            | 10 | 42,0 $\pm$ 2,8            | 0,05   |
| 40                                                                                                         | 10               | 59,7 $\pm$ 1,7            | 10 | 48,2 $\pm$ 2,4            | 0,0025 |
| 40 Injektion von 2,5 bzw. 3,5 mg 4-Dimethylaminophenol-<br>HCl und 250 mg Natriumthiosulfat pro kg KG i.v. |                  |                           |    |                           |        |
| 60                                                                                                         | 8                | 44,8 $\pm$ 1,6            | 8  | 33,3 $\pm$ 2,1            | 0,0005 |
| 80                                                                                                         | 5                | 50,8 $\pm$ 3,0            | 6  | 35,8 $\pm$ 3,4            | 0,005  |
| 100                                                                                                        | 7                | 56,1 $\pm$ 1,6            | 6  | 48,9 $\pm$ 2,5            | 0,05   |
| 120                                                                                                        | 8                | 64,1 $\pm$ 1,5            | 7  | 51,8 $\pm$ 2,8            | 0,0025 |
| 200                                                                                                        | 9                | 77,3 $\pm$ 2,2            | 6  | 67,9 $\pm$ 3,4            | 0,05   |
| 360                                                                                                        | 9                | 86,4 $\pm$ 1,6            | 7  | 73,3 $\pm$ 3,1            | 0,0025 |

Tab. 18: Ferrohämoglobinkonzentrationen in Hunden nach oraler Gabe von 50 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 5 bzw. 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg und 500 mg Natriumthiosulfat/kg.

Angaben der Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standard-Error ( $s_{\bar{x}}$ ).

Statistische Auswertung mit Hilfe des t-Testes (p <).

Nach jeder intravenösen Injektion von 4-Dimethylaminophenol sinken . auch hier die Ferrohämoblobinkonzentrationen deutlich ab (Abb. 18).

7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg bilden höhere Ferrihämoblobinkonzentrationen als 5 mg 4-DMAP-HCl/kg.

Auffallend ist der gleichartige Verlauf der Ferrohämoblobinkonzentrationen, welche sich zu allen Zeitpunkten signifikant unterscheiden (Tab. 18).

Durch die zusätzliche intravenöse Injektion von Natriumthiosulfat war hier nur noch eine einmalige Wiederholungsgabe der halben Anfangsdosis des Antidots notwendig. Das hatte zur Folge, daß den Versuchshunden ab der 60. Minute steigende Ferrohämoblobinkonzentrationen zur Verfügung standen. Nach Verabreichung von 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl pro kg wurde hier im Gegensatz zu Versuchsanordnung III die Minimaltoleranz der Ferrohämoblobinkonzentrationen nicht unterschritten.

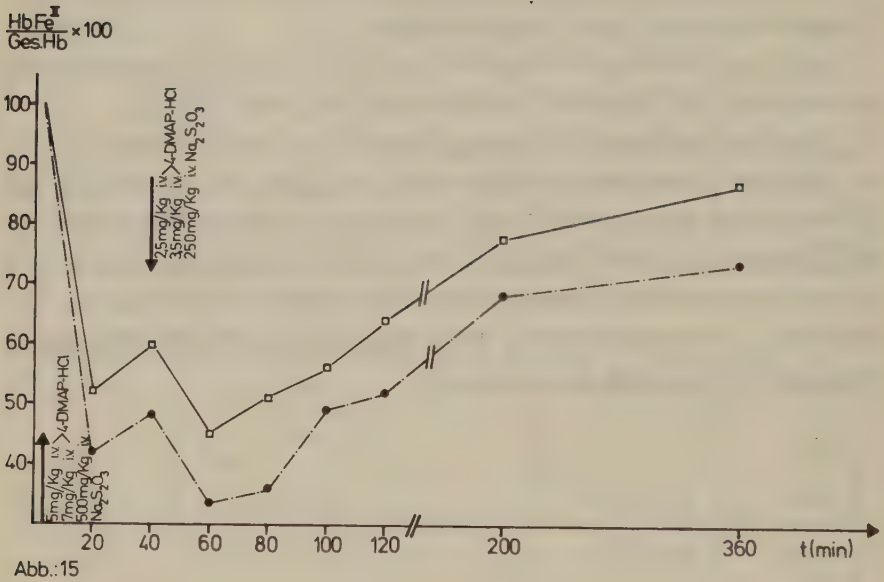


Abb. 15: Ferrohämoglobinkonzentrationen in Hunden nach oraler Gabe von 50 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 5 bzw. 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg und 500 mg Natriumthiosulfat/kg 3 Minuten nach Verabreichung des Kaliumcyanids. 40 Minuten nach der Kaliumcyanid-Gabe erfolgte eine i.v.-Injektion der halben Anfangsdosis des 4-Dimethylaminophenols und des Natriumthiosulfats.

- 5 mg 4-DMAP-HCl/kg + 500 mg  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ /kg
- 7 mg 4-DMAP-HCl/kg + 500 mg  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ /kg

#### 2.2.3.4.2 Ferrihämoglobin

Tabelle 19 und Abbildung 16 stellen die Ferrihämoglobinkonzentrationen nach oraler Gabe von 50 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 5 bzw. 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg und 500 mg Natriumthiosulfat/kg dar.

| min nach<br>KCN-<br>Gabe                                                                                    | mg 4-DMAP-HCl/kg |                           |    |                           | p <  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------------------------|----|---------------------------|------|
|                                                                                                             | 5                |                           | 7  |                           |      |
|                                                                                                             | n                | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ | n  | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ |      |
| 20                                                                                                          | 10               | 16,3 $\pm$ 3,7            | 10 | 18,8 $\pm$ 2,8            | n s  |
| 40                                                                                                          | 10               | 10,2 $\pm$ 2,5            | 10 | 10,1 $\pm$ 2,4            | n s  |
| 40 Injektion von 2,5 bzw. 3,5 mg 4-Dimethylaminophenol-<br>HCl und 250 mg Natriumthiosulfat pro kg KG i. v. |                  |                           |    |                           |      |
| 60                                                                                                          | 8                | 26,5 $\pm$ 3,9            | 8  | 28,2 $\pm$ 2,1            | n s  |
| 80                                                                                                          | 5                | 18,6 $\pm$ 3,7            | 6  | 21,4 $\pm$ 2,1            | n s  |
| 100                                                                                                         | 7                | 18,5 $\pm$ 3,4            | 6  | 17,2 $\pm$ 2,5            | n s  |
| 120                                                                                                         | 8                | 18,0 $\pm$ 2,5            | 7  | 14,6 $\pm$ 1,8            | n s  |
| 200                                                                                                         | 9                | 12,1 $\pm$ 1,8            | 6  | 11,5 $\pm$ 1,2            | n s  |
| 360                                                                                                         | 9                | 3,6 $\pm$ 1,1             | 7  | 8,0 $\pm$ 1,9             | 0,05 |

Tab. 19: Ferrihämoglobinkonzentrationen in Hunden nach oraler Gabe von 50 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Gabe von 5 bzw. 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg und 500 mg Natriumthiosulfat/kg.

Angaben der Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standard-Error ( $s_{\bar{x}}$ ).

Statistische Auswertung mit Hilfe des t-Testes ( $p <$ ).



Der freie Anteil an Ferrihämoglobin zeigt auch hier eine deutliche Zunahme nach jeder intravenösen Injektion von 4-Dimethylaminophenol.

Eine intravenöse Verabreichung von 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg oxidiert 50% des gesamten Hämoglobins zu Ferrihämoglobin, 7 mg/kg oxidierten 62% (2.1.1.). Dennoch sind die freien Ferrihämoglobinkonzentrationen dieser Versuchsanordnung bei sieben von acht Meßwerten nahezu gleich.

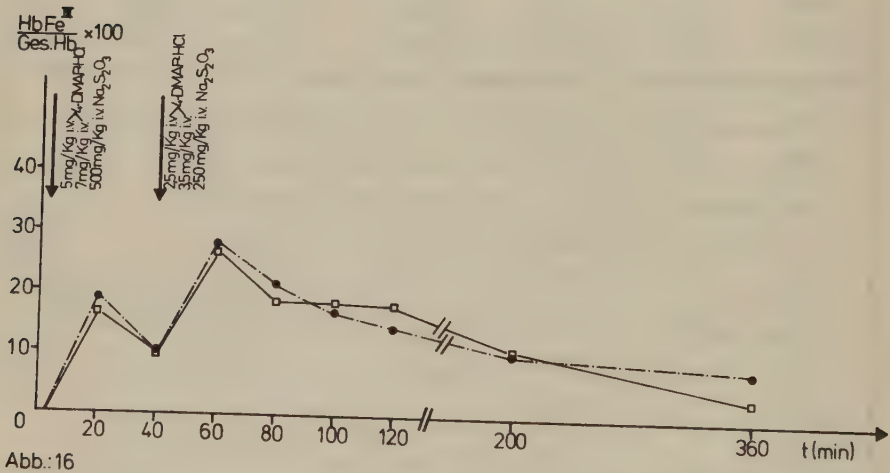


Abb. 16: Ferrihämoglobinkonzentrationen in Hunden nach oraler Gabe von 50 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 5 bzw. 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg und 500 mg Natriumthiosulfat/kg 3 Minuten nach Verabreichung des Kaliumcyanids. 40 Minuten nach der Kaliumcyanid-Gabe erfolgte eine i.v.-Injektion der halben Anfangsdosis des 4-Dimethylaminophenols und des Natriumthiosulfats.

□ 5 mg 4-DMAP-HCl/kg + 500 mg Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/kg

● 7 mg 4-DMAP-HCl/kg + 500 mg Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/kg

### 2.2.3.4.3 Ferrihämoglobin-Cyanid

Die Ferrihämoglobincyanid-Konzentrationen der Versuchsanordnung IV sind in Tabelle 20 und Abbildung 17 veranschaulicht.

| min nach<br>KCN-<br>Gabe                                                                                | mg 4-DMAP-HCl/kg |                           |    |                           | p <    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------------------------|----|---------------------------|--------|
|                                                                                                         | 5                |                           | 7  |                           |        |
|                                                                                                         | n                | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ | n  | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ |        |
| 20                                                                                                      | 10               | $31,7 \pm 2,5$            | 10 | $39,1 \pm 2,7$            | 0,05   |
| 40                                                                                                      | 10               | $30,0 \pm 3,0$            | 10 | $41,7 \pm 1,5$            | 0,0025 |
| 40 Injektion von 2,5 bzw. 3,5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl und 250 mg Natriumthiosulfat pro kg KG i. v. |                  |                           |    |                           |        |
| 60                                                                                                      | 8                | $28,0 \pm 3,8$            | 8  | $38,6 \pm 2,7$            | 0,0025 |
| 80                                                                                                      | 5                | $31,5 \pm 4,6$            | 6  | $42,8 \pm 3,3$            | 0,05   |
| 100                                                                                                     | 7                | $25,2 \pm 4,2$            | 6  | $32,1 \pm 2,0$            | 0,05   |
| 120                                                                                                     | 8                | $18,2 \pm 3,7$            | 7  | $33,7 \pm 2,4$            | 0,0025 |
| 200                                                                                                     | 9                | $12,1 \pm 3,3$            | 6  | $20,7 \pm 2,5$            | 0,05   |
| 360                                                                                                     | 9                | $10,5 \pm 2,4$            | 7  | $18,7 \pm 3,2$            | 0,05   |

Tab. 20: Konzentrationen des Ferrihämoglobin-Cyanids in Hunden nach oraler Gabe von 50 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 5 bzw. 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg und 500 mg Natriumthiosulfat/kg.

Angaben der Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) mit Standard-Error ( $s_{\bar{x}}$ ).

Statistische Auswertung mit Hilfe des t-Testes ( $p <$ ).

Nach oraler Gabe von 50 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 5 bzw. 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg und 500 mg Natriumthiosulfat/kg nehmen die Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentrationen rasch zu. Schon 8-10 Minuten nach i.v.-Injektion des 4-Dimethylaminophenols sind die halbmaximalen, nach 20 Minuten fast die maximalen Konzentrationen gebildet. Ab der 80. Minute ist eine deutliche Abnahme des Ferrihämoglobin-Komplexes zu verzeichnen (Abb. 17).

7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg bilden zu allen Zeitpunkten einen signifikant höheren Komplex, als 5 mg/kg (Tab. 20).

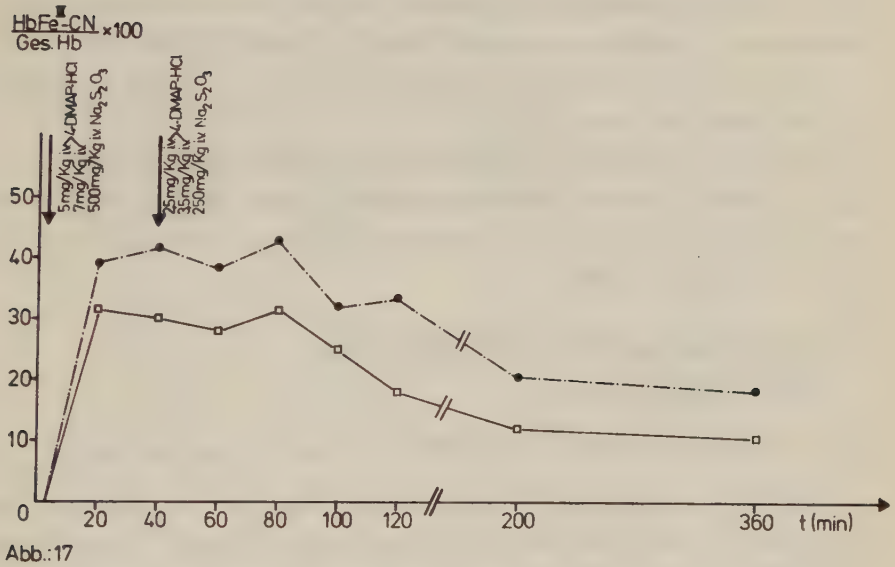


Abb. 17: Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentrationen in Hunden nach oraler Gabe von 50 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 5 bzw. 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg und 500 mg Natriumthiosulfat/kg 3 Minuten nach Verabreichung des Kaliumcyanids. 40 Minuten nach der Kaliumcyanid-Gabe erfolgte eine i.v.-Injektion der halben Anfangsdosis des 4-Dimethylaminophenols und des Natriumthiosulfats.

- 5 mg 4-DMAP-HCl/kg + 500 mg Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/kg
- 7 mg 4-DMAP-HCl/kg + 500 mg Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/kg

#### 2.2.4 Maximale Cyanidbindung bei überlebenden und gestorbenen Versuchstieren

Um die maximale Cyanidbindung an Ferrihämoglobin bei den überlebenden und gestorbenen Hunden vergleichen zu können, wurde die höchste Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentration bei jedem Tier einzeln ermittelt.

Die erhaltenen Werte wurden anschließend auf  $\text{CN}^-$  mg/100 mg Hb umgerechnet (siehe unten) und gemittelt.

Das Cyanid wurde auf Hämoglobin, und nicht auf Ferrihämoglobin bezogen - obwohl es nur mit diesem eine Bindung eingeht - da Hunde einen sehr unterschiedlichen Gehalt an Gesamthämoglobin haben (Schwankungen von 14 - 22 g/100 ml Blut).

##### 1. Umrechnung von $\text{HbFe}^{\text{III}}$ -CN g/100 ml Blut auf $\text{CN}^-$ mg/100 mg Hb

###### a) Umrechnung von $\text{HbFe}^{\text{III}}$ -CN g/100 ml Blut auf KCN mg/ml Blut:

LIPOWSKY, KIESE und WEGER stellten über in vitro Versuche fest, daß 1 Mol  $\text{HbFe}^{\text{III}}$  4 Mole KCN bindet. Demnach binden 16 g  $\text{HbFe}^{\text{III}}$ /100 ml Blut ( $= 2,388 \times 10^{-3}$  Mol) 0,62088 mg KCN/ml Blut ( $= 9,552 \times 10^{-3}$  Mol). (Unveröffentlichte Ergebnisse). Nach diesen Ergebnissen wurde ein Diagramm zur Bestimmung des komplexgebundenen Kaliumcyanids angefertigt.

Der Kaliumcyanid-Gehalt (mg/ml Blut) einer gegebenen Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentration (g/100 ml Blut) konnte jeweils an Hand des Diagramms ermittelt werden.

###### b) Umrechnung von KCN mg/ml Blut auf $\text{CN}^-$ mg/ml Blut:

Kaliumcyanid hat ein Molekulargewicht von 65,114. Cyanid hat ein Molekulargewicht von 26,018.

Demnach sind in 65,114 mg KCN 26,018 mg  $\text{CN}^-$  enthalten.

In 100 mg KCN sind  $\frac{26,018 \times 100}{65,114}$  mg  $\text{CN}^-$  = 40 mg  $\text{CN}^-$  enthalten. So-

mit besteht Kaliumcyanid zu 40% aus Cyanid, woraus sich folgende Gleichung ableiten läßt:

$$\frac{\text{KCN mg/ml Blut} \times 40}{100} = \text{CN}^- \text{ mg/ml Blut}$$

c) Umrechnung von  $\text{CN}^-$  mg/ml Blut auf  $\text{CN}^-$  mg/100 mg Hb:

$$\frac{K \times 100}{m} = \frac{\text{CN}^- \text{ mg/100 mg Hb}}{\text{ }}$$

m = tatsächlich vorhandenes Gesamthämoglobin mg/ml Blut

K = errechnete Menge  $\text{CN}^-$  mg/ml Blut

## 2. Maximale Cyanidbindung ( $\text{CN}^-$ mg/100 mg Hb)

Über die unterschiedliche Cyanidbindung bei überlebenden und gestorbenen Hunden innerhalb einer Versuchsgruppe orientiert Abbildung 18.

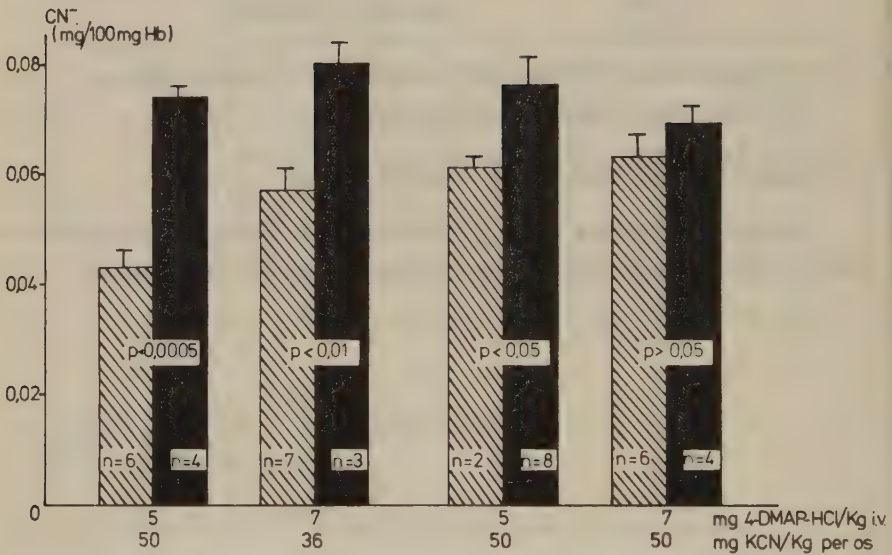


Abb. 18

**Abb. 18:** Maximale Cyanidbindung (mg  $\text{CN}^-$ /100 mg Hb) in Hunden nach Gabe verschiedener Dosen von Cyanid und verschiedener Dosen von 4-Dimethylaminophenol. Vergleich bei den jeweils überlebenden und gestorbenen Tieren innerhalb einer Versuchsgruppe.



Tiere, die überlebt haben



Tiere, die gestorben sind



Standard-Error ( $s_{\bar{x}}$ )



Aus Abbildung 18 ist zu ersehen, daß die Tiere, welche die Blausäurevergiftung nicht überstanden haben, eine höhere maximale Cyanidbindung aufweisen, als die Tiere, die den Versuch überlebt haben.

Diese unterschiedliche Cyanidbindung ist bei einer Kaliumcyanid-Gabe von 36 mg/kg nach intravenöser Gabe von 5 bzw. 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg hochsignifikant. Nach Gabe von 50 mg Kaliumcyanid/kg und 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg weisen die überlebenden und gestorbenen Hunde ebenfalls noch eine signifikant unterschiedliche Cyanidbindung auf. Nach Gabe derselben Cyaniddosis besteht nach Erhöhung der 4-Dimethylaminophenol-Dosis auf 7 mg/kg kein wesentlicher Unterschied mehr in der Cyanidbindung.

### 3. Gesamtauswertung

Die nun folgende Auswertung der Ergebnisse richtet sich nach den unter 2.2. angegebenen und hier noch einmal aufgeführten Parametern:

- a) Symptome
- b) Ferrohämoglobin-, Ferrihämoglobin- und Ferrihämoglobincyanidanteil des Blutes
- c) Maximale Cyanidbindung

Nachdem ein Vergleich bezüglich der Kaliumcyaniddosierung erfolgte (2.2.ff), bleibt noch zu untersuchen, ob die genannten Parameter in Abhängigkeit der 4-Dimethylaminophenol-Dosis bzw. der Natriumthiosulfat-Dosis Unterschiede aufweisen. Außerdem erhebt sich die Frage, ob bei den unter 2.ff gezeigten Ergebnissen eine Abhängigkeit der einzelnen Parameter untereinander gegeben ist, was in folgendem geprüft wird.

### 3.1. Symptome

Der zeitliche Verlauf folgender Symptome ist nicht von der Kaliumcyanid-dosierung abhängig (siehe 2.2.1):

- a) Wiedergewonnene koordinierte Motorik,
- b) zum zweiten Mal auftretende tonisch-klonische Krämpfe (hier erfolgte eine erneute Applikation der halben 4-Dimethylaminophenol-Dosis),
- c) zum zweiten Mal wiedergewonnene koordinierte Motorik und
- d) wiedererlangter Normalzustand.

Es läßt sich jedoch eine Abhängigkeit bezüglich der 4-Dimethylaminophenol-Dosis feststellen:

Nach Gabe von 36 mg Kaliumcyanid/kg zeigten die Tiere, die mit 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg behandelt wurden mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 0,05% signifikant viel eher eine koordinierte Motorik (3.1.c), als die Tiere, denen 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg intravenös injiziert wurde (nach 88 bzw. 225 min).

Nach Gabe von 50 mg Kaliumcyanid/kg erreichten die Tiere, die mit 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg überlebten, den Normalzustand schon nach 180 Minuten. Wurden die Tiere jedoch mit 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg behandelt, trat der Normalzustand der überlebenden Tiere erst 273 Minuten nach Kaliumcyanid-Gabe ein ( $p < 0,025$ ).

Hunde, denen bei intravenöser Gabe von 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg zusätzlich 500 mg Natriumthiosulfat/kg injiziert wurde, erholten sich schon 90 Minuten nach Gabe von Kaliumcyanid. Dagegen erlangten die Tiere, die ohne Thiosulfat behandelt wurden, den Normalzustand erst nach 180 Minuten ( $p < 0,0025$ ).

Nach Erhöhung der 4-Dimethylaminophenol-Dosis auf 7 mg/kg ließen sich im zeitlichen Verlauf der oben genannten Symptome bei der gleichen Kaliumcyanid-Dosis und nach zusätzlicher Gabe von Natriumthiosulfat keine signifikanten Unterschiede mehr feststellen.

### 3.2. Ferrohämoglobin, Ferrihämoglobin und Ferrihämoglobin-Cyanid

#### 3.2.1. Ferrohämoglobin

a) Aus den dargestellten Ergebnissen ist zu ersehen, daß selten signifikante Unterschiede bezüglich der Kaliumcyanid-Dosierung bei den Ferrohämoglobinkonzentrationen auftreten (2.2.3.2.1. und 2.2.3.3.1.).

b) Nach Gabe von 36 mg Kaliumcyanid/kg sinkt die Ferrohämoglobinkonzentration bei einer Therapie mit 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg nicht so tief, als nach Behandlung mit 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg. Von neuen Meßwerten unterscheiden sich drei signifikant voneinander.

Nach Verabreichung von 50 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 5 bzw. 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg sinkt der Ferrohämoglobingehalt des Blutes bei der höheren 4-Dimethylaminophenol-Dosis ebenfalls tiefer. Es treten jedoch keine signifikanten Unterschiede mehr auf.

Dieses ändert sich, wenn den Tieren zusätzlich je 500 mg Natriumthiosulfat/kg verabreicht wird. Die Ferrohämoglobinkonzentrationen sinken dann nach intravenöser Gabe von 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg zu allen Zeitpunkten signifikant viel tiefer, als nach Gabe von 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg.

c) Nach Verabreichung von 50 mg Kaliumcyanid/kg und 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg sinkt der Ferrohämoglobinanteil ohne Gabe von Natriumthiosulfat viel tiefer, als nach zusätzlicher intravenöser Verabreichung des Natriumthiosulfats. Drei von neun Meßwerten unterscheiden sich hier signifikant voneinander.

Erhöht man die 4-Dimethylaminophenol-Dosis auf 7 mg/kg, so verlaufen die beiden Ferrohämoglobinkonzentrationen fast punktgleich.

### 3.2.2. Ferrihämoglobin

a) Der Verlauf der Ferrihämoglobinkonzentrationen nach Verabreichung verschiedener Kaliumcyanid-Dosen und gleicher 4-Dimethylaminophenol-Dosen wurde unter 2.2.3.2.2 und 2.2.3.3.2 dargestellt. Der noch freie Anteil an Ferrihämoglobin wies eine Abhängigkeit bezüglich der Cyaniddosis auf.

b) Die Dosis-Wirkungsabhängigkeit der Ferrihämoglobinbildung durch 4-Dimethylaminophenol wurde unter 2.1.3 gezeigt. In folgendem wird untersucht, ob sich diese Abhängigkeit auch nach Cyanidbelastung in dem noch freien Anteil an Ferrihämoglobin ausdrückt.

Behandelt man eine Kaliumcyanidvergiftung von 36 mg/kg zunächst mit 5 mg/kg und dann mit 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg, so läßt sich trotz der Erhöhung der 4-Dimethylaminophenol-Dosis kein signifikanter Unterschied bei den Ferrihämoglobinkonzentrationen feststellen.

Nach Gabe von 50 mg Kaliumcyanid/kg weisen die Tiere, die mit 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg behandelt wurden in drei von sieben Meßwerten eine signifikant niedrigere Ferrihämoglobinkonzentration auf, als die Tiere, denen 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg intravenös verabreicht wurde.

Bei einer Vergiftung mit 50 mg Kaliumcyanid/kg unterscheidet sich der noch freie Anteil an Ferrihämoglobin nach Gabe von 5 bzw. 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg i.v. und je 500 mg Natriumthiosulfat/kg nicht mehr voneinander.

c) Nach Verabreichung gleicher Dosen Kaliumcyanid und gleicher Dosen 4-Dimethylaminophenol ist bei den Tieren, denen zusätzlich Natriumthiosulfat i.v. gegeben wurde, eine höhere Ferrihämoglobinkonzentration festzustellen, als bei den Tieren, die kein Thiosulfat erhalten haben. Dabei unterscheiden sich nach Gabe von 50 mg Kaliumcyanid/kg, 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg und 0 bzw. 500 mg Natriumthiosulfat/kg zwei von 5, nach Erhöhung der 4-Dimethylaminophenol-Dosis auf 7 mg/kg nur noch 1 von 6 Meßwerte signifikant voneinander.

### 3.2.3 Ferrihämoglobin-Cyanid

Der Verlauf der Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentrationen scheint ein Maß für den Entzug des Cyanids aus der Bindung mit der Cytochromoxidase zu sein. Daraus wäre zu folgern, daß die Höhe der Komplexbildung eine Aussage über die Entgiftung des Cyanids ist.

a) Wie schon unter 2.2.3.2.3 veranschaulicht, steigen die Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentrationen nach intravenöser Injektion von 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg mit Erhöhung der Kaliumcyanid-Dosis. Dies ist nach einer Therapie mit 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg nicht mehr der Fall (2.2.3.3.3).

b) Es wäre zu erwarten, daß eine Erhöhung der 4-Dimethylaminophenol-Dosis bei gleichbleibender Kaliumcyanid-Dosis eine entsprechende Veränderung des Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplexes bewirkt, da durch vermehrte Ferrihämoglobinbildung mehr Cyanid gebunden werden kann. In folgendem wird geprüft, ob dieses zutrifft.

Nach Verabreichung von 36 mg Kaliumcyanid/kg wird nach Gabe von 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg weniger Ferrihämoglobin-Cyanid gebildet, als nach Gabe von 7 mg/kg. Es unterscheiden sich drei von neun Meßpunkten signifikant voneinander.

Dagegen verlaufen die Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentrationen nach Vergiftung mit 50 mg Kaliumcyanid/kg und Behandlung mit 5 bzw. 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg nahezu punktgleich. Gibt man den Tieren jedoch noch zusätzlich Natriumthiosulfat (500 mg/kg i.v.), so zeigen die Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentrationen wiederum eine Abhängigkeit zur 4-Dimethylaminophenol-Dosis. Mit steigenden Dosen 4-Dimethylaminophenol findet eine höhere Komplexbildung statt. Die sich bildenden Konzentrationen unterscheiden sich signifikant.

c) Da eine zusätzliche Verabreichung von Thiosulfat die Metabolisierung des Ferrihämoglobincyanidkomplexes zum ausscheidungsfähigen Thiocyanat ( $\text{SCN}^-$ ) fördert, müßte in diesem Fall der im Blut nachweisbare Komplex nach längerer Versuchsdauer niedriger sein, als bei einer Therapie der



Blausäurevergiftung ohne Thiosulfat.

Nach einer Vergiftung mit 50 mg Kaliumcyanid pro kg und Behandlung mit 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg und 0 bzw. 500 mg Natriumthiosulfat/kg bleibt die Ferrihämoglobincyanid-Konzentration im Blut während des ganzen Versuches nach zusätzlicher Gabe von Natriumthiosulfat viel niedriger, als bei den Tieren, denen kein Thiosulfat verabreicht wurde. Dabei unterscheiden sich 3 von 5 Meßwerten signifikant voneinander.

Erhöht man die 4-Dimethylaminophenol-Dosis auf 7 mg/kg KG, so ist nach zusätzlicher Gabe von Thiosulfat in den ersten 40 Minuten nach KCN-Verabreichung ein signifikant höherer Ferrihämoglobincyanid-Komplex im Blut der Tiere nachzuweisen. Ab der 40. Minute bleibt dieser jedoch auf der gewonnenen Höhe und verläuft nun niedriger als bei den Tieren, denen kein Thiosulfat verabreicht wurde. Ab diesem Zeitpunkt zeigen sich keine signifikanten Unterschiede mehr.



### 3.3. Maximale Cyanidbindung

#### 3.3.1. Maximale Cyanidbindung bei überlebenden Tieren

Ein Vergleich der maximalen Cyanidbindung in mg pro 100 mg Hämoglobin zwischen überlebenden und gestorbenen Tieren wurde unter 2.2.4. dargestellt. Dort zeigten sich signifikant unterschiedliche Ergebnisse.

a) Nach Gabe gleicher Dosen Kaliumcyanid zeigte sich bezüglich der 4-Dimethylaminophenoldosis bei den überlebenden Tieren keine signifikanten Unterschiede in der maximalen Bindung des Cyanids ( $\text{CN}^-$  mg/100 mg Hb).

b) Die maximale Bindung des  $\text{CN}^-$  mg/100 mg Hb nach Verabreichung von 50 mg Kaliumcyanid/kg, je 500 mg Natriumthiosulfat/kg und 5 bzw. 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg ist in der folgenden Abbildung (Abb. 19) veranschaulicht.

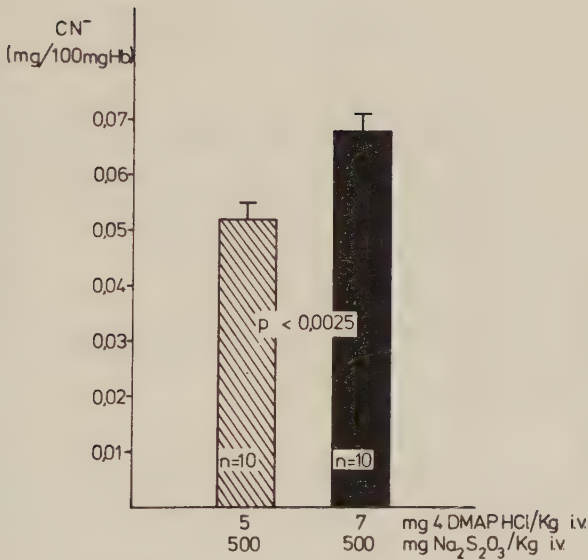


Abb.: 19

Abb. 19: Maximale Cyanidbindung ( $\text{CN}^-$  mg/100 mg Hb) in Hunden nach oraler Gabe von 50 mg Kaliumcyanid/kg und i.v.-Injektion von 5 bzw. 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg und 500 mg Natriumthiosulfat.



5 mg 4-DMAP-HCl/kg + 500 mg  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ /kg



7 mg 4-DMAP-HCl/kg + 500 mg  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ /kg



Standard-Error ( $s_{\bar{x}}$ )

Aus der Abbildung geht hervor, daß nach Gabe von 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg und 500 mg Natriumthiosulfat/kg i.v. ein signifikant höherer Anteil des Cyanids an Ferrihämoglobin gebunden wird, als nach intravenöser Injektion von 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg und 500 mg Natriumthiosulfat/kg ( $p < 0,0025$ ).

### 3.3.2. Maximale Cyanidbindung bei allen Tieren

| KCN per os<br>mg/kg | CN <sup>-</sup> per os<br>mg/kg | 4-DMAP-HCl<br>mg/kg i. v. | HbFe <sup>III</sup><br>Ges. Hb · 100 | Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub><br>mg/kg i. v. | Überlebende<br>Versuchstiere | CN <sup>-</sup> an HbFe<br>mg/kg | III<br>gebunden<br>% d. Dosis |
|---------------------|---------------------------------|---------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------------------------------|------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| 7,5                 | 3 <sup>*)</sup>                 | -.-                       | -.-                                  | -.-                                                          | 5/10                         | -.-                              | -.-                           |
| 24                  | 9,6                             | 2,5                       | 30                                   | -.-                                                          | 9/10                         | 6,96                             | 72                            |
| 24                  | 9,6                             | 5,0                       | 50                                   | -.-                                                          | 10/10                        | 7,56                             | 78                            |
| 36                  | 14,4                            | 5,0                       | 50                                   | -.-                                                          | 6/10                         | 8,28                             | 57                            |
| 36                  | 14,4                            | 7,0                       | 60                                   | -.-                                                          | 7/10                         | 11,40                            | 79                            |
| 50                  | 20,0                            | 5,0                       | 50                                   | -.-                                                          | 2/10                         | 11,25                            | 56                            |
| 50                  | 20,0                            | 7,0                       | 60                                   | -.-                                                          | 6/10                         | 11,00                            | 55 <sup>a</sup>               |
| 50                  | 20,0                            | 5,0                       | 50                                   | 500                                                          | 10/10                        | 9,6                              | 48                            |
| 50                  | 20,0                            | 7,0                       | 60                                   | 500                                                          | 10/10                        | 8,2                              | 41                            |

A B C D E F G H

Tab. 21: Wirkung von 4-Dimethylaminophenol bei Blausäurevergiftung von Hunden  
(In jeder Versuchsgruppe 10 Tiere).

\*) Angabe nach PAULET (74): LD<sub>50</sub> des CN<sup>-</sup> nach s.c.-Injektion.

Die Tabelle zeigt den Erfolg der Bildung verschiedener Ferrihämoglobinkonzentrationen durch 4-Dimethylaminophenol nach Vergiftung mit verschiedenen Cyaniddosen und die maximal an  $\text{HbFe}^{\text{III}}$  gebundene Cyanidmenge.

Erläuterung der Spalten A - H:

- Spalte A: Oral verabreichte Dosis Kaliumcyanid mg/kg
- Spalte B: Entsprechende Dosis Cyanid zur Dosis Kaliumcyanid (mg/kg)
- Spalte C: Intravenös verabreichte Dosis 4-Dimethylaminophenol-HCl (mg/kg)
- Spalte D: Gebildete Ferrihämoglobinkonzentrationen durch die in Spalte C angegebenen 4-Dimethylaminophenol-Dosen
- Spalte E: Intravenös verabreichte Natriumthiosulfat-Dosis
- Spalte F: Überlebende Versuchstiere (z.B. 5/10 = 5 von 10 Hunden haben überlebt).
- Spalte G: An Ferrihämoglobin gebundene Cyanidmenge (mg/kg)
- Spalte H: Prozent der eingegebenen Dosis Cyanid, die an Ferrihämoglobin gebunden wurde.

Obwohl Blausäure eine sehr hohe Affinität zum Ferrihämoglobin hat, wurde überraschenderweise bei keinem der Versuche, auch nicht bei größeren tödlichen Mengen von Cyanid im Organismus, das gesamte Ferrihämoglobin mit Cyanid besetzt.

In Tabelle 21 ist der Erfolg der Bildung verschiedener Ferrihämoglobinkonzentrationen durch 4-Dimethylaminophenol nach Vergiftung mit verschiedenen Cyaniddosen zusammengestellt.

Die Vergiftung durch  $9,6 \text{ mg CN}^-/\text{kg}$  - welche  $24 \text{ mg KCN/kg}$  entsprechen - überlebten 9 von 10 Hunden, wenn durch  $2,5 \text{ mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg}$  30% Ferrihämoglobin gebildet worden waren. Durch Bildung von 50% Ferrihämoglobin konnten alle Tiere gerettet werden. Bei einer Dosis von  $14,4 \text{ mg Cyanid/kg}$  überlebten 6 von 10 Tieren, wenn 50% Ferrihämoglobin gebildet wurden. Eine Bildung von 60% zeigte keine wesentliche Besserung in der Überlebensrate.

Nach oralen Gaben hoher Dosen Cyanid (20 mg/kg) wurde erst durch zusätzliche intravenöse Verabreichung von 500 mg Natriumthiosulfat/kg eine 100%ige Überlebensrate erzielt.

In der vorletzten Spalte ist errechnet, welche Cyanidmenge an das Ferrihämoglobin gebunden wurde. Diese ist an Hand eines Diagramms (siehe S. 78) aus der Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentration, die in den Tieren bestimmt wurde, ermittelt worden. Der Vergleich mit der ersten Spalte ist besonders bei den Versuchen mit großen Dosen von Cyanid interessant. Hier wurden höchstens 56% der eingegebenen Cyaniddosen an das Ferrihämoglobin gebunden.

Nach Gabe von 20 mg Cyanid/kg wurden bei allen vier Versuchsreihen durchschnittlich 10 mg  $\text{CN}^-$ /kg nicht an das Ferrihämoglobin gebunden - eine Dosis, die bei unbehandelten Tieren sicher tödlich wirkt. Dennoch wurden nach Bildung von 50 - 60% Ferrihämoglobin 28 von 40 Tieren gerettet.

### 3.4. Vergleich zwischen Ferrohämoglobin und Ferrihämoglobin und den Entgiftungssymptomen

3.4.1 Bei allen acht unter 2.2 aufgezeigten Versuchsgruppen verlaufen die Ferrohämoglobinkonzentrationen und der noch freie Anteil an Ferrihämoglobin in den Hunden immer gegensinnig.

D.h. nach intravenöser Gabe von 4-Dimethylaminophenol und der damit ansteigenden Ferrihämoglobinkonzentration sinkt das Ferrohämoglobin ab.

3.4.2. Der Ferrihämoglobincyanid-Komplex dagegen macht die Schwankungen der Ferrihämoglobinkonzentrationen nicht mit, sondern strebt immer kontinuierlich einem Maximalwert zu, der relativ lange gehalten wird. Dabei bleibt das Maximum des Ferrihämoglobincyanid-Komplexes bei allen Versuchsgruppen, die alleine mit 4-Dimethylaminophenol behandelt wurden, durchschnittlich immer 80 Minuten lang bestehen. Bei den Tieren, denen zusätzlich Natriumthiosulfat gegeben wurde, hält die maximale Konzentration dagegen nur halb so lange, d.h. 40 Minuten, an. Dabei fällt die schnellere Erholung dieser Tiere auf.

3.4.3. Betrachtet man den Verlauf der Entgiftungssymptome, so fällt auf, daß diese mit dem Angebot an Ferrihämoglobin und nicht, wie erwartet, mit der Ferrihämoglobincyanid-Konzentration korrelieren. D.h., daß in den ersten 120 Minuten nach Gabe des KCN ein Abfall des noch freien Ferrihämoglobingehaltes im Blut der Tiere eine Verschlechterung der Symptome bewirkt, auch wenn der Ferrihämoglobincyanid-Komplex sein Maximum schon erreicht hat. Auffallend ist weiterhin, daß bei akuter klinischer Verschlechterung und sogar bei eintretendem Tod der Tiere immer 5 bis 10% noch freies Ferrihämoglobin im Blut vorhanden ist. Diese Tatsache läßt vermuten, daß ein bestimmtes Minimum an Ferrihämoglobin im Blut blausäurevergifteter Tiere erforderlich ist, um die Cyanidionen dem Atmungsferment zu entziehen.



#### IV. DISKUSSION

Untersuchungen von BODANSKY (9) zeigten, daß Hunde bei Bildung von weniger als 60% Ferrihämoglobin außer einer Cyanose der Schleimhäute keine weiteren Symptome aufweisen. Erst bei Bildung höherer Ferrihämoglobinkonzentrationen beschreibt BODANSKY (9) folgende Symptome:

Werden 60 - 70% des gesamten Hämoglobins zu Ferrihämoglobin oxidiert, so stellen sich Salivation, Ataxie und Erbrechen ein. Nach Bildung von 71 - 80% Ferrihämoglobin sind die hervorstechendsten Symptome Ataxie und Erbrechen. Bei Ferrihämoglobinkonzentrationen von 81 - 90% tritt Bewußtlosigkeit ein (9).

Unsere Untersuchungen zur maximalen Entgiftung von Cyanid bei noch optimalen Ferrihämoglobinkonzentrationen zeigten übereinstimmende Ergebnisse mit BODANSKY (9), obwohl die Hunde durch die bestehende Blausäurevergiftung zusätzlich belastet waren.

##### Symptome

Bei Bildung von Ferrihämoglobinkonzentrationen bis zu 50% erholten sich die Hunde nach Gabe von 24 mg Kaliumcyanid/kg und intravenöser Injektion von 2,5 bzw. 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg nahezu gleich schnell.

In den weiteren Versuchen wurden zur Bildung therapeutischer Ferrihämoglobinkonzentrationen 5 mg (bildet 50%  $\text{HbFe}^{\text{III}}$ ) bzw. 7 mg (bildet 62%  $\text{HbFe}^{\text{III}}$ ) 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg i.v. injiziert. Es zeigte sich, daß Vergiftungen mit 36 mg Kaliumcyanid/kg nach Bildung von 50% Ferrihämoglobin signifikant schneller überwunden wurden, als bei einer Ferrihämoglobinkonzentration von 62% ( $p < 0,05$ ).

Nach Gabe von 50 mg Kaliumcyanid/kg zeigte sich dieser Unterschied bezüglich der Ferrihämoglobinkonzentration noch deutlicher. Die Hunde, in denen 50% Ferrihämoglobin gebildet worden war, erholten sich schon nach  $180 \pm 16$  Minuten, während die Hunde, in denen 62% Ferrihämoglobin gebildet worden war, erst nach  $273 \pm 21$  Minuten den Ausgangszustand wiedererlangten ( $p < 0,025$ ).

Auffallend war, daß die Hunde, bei denen 50% des gesamten Hämoglobins zu Ferrihämoglobin oxidiert worden war, signifikant schneller die koordinierte Motorik wiedererlangten (unabhängig von der Vergiftungsintensität), als die, bei denen 62% Ferrihämoglobin gebildet wurde ( $p < 0,0005$ ).

Nach diesen mit BODANSKY (9) übereinstimmenden Ergebnissen zeigt sich, daß - ungeachtet der Cyanidvergiftung - erst Konzentrationen über 60% Ferrihämoglobin den Organismus zusätzlich belasten.

### Ferrohämoglobin

Es liegt nahe, daß der noch bleibende Anteil an Ferrohämoglobin die unterschiedlich andauernde Erholungsphase mitbestimmt. Nach Gabe von 36 bzw. 50 mg Kaliumcyanid/kg bleibt immer den Hunden, bei denen 50% Ferrihämoglobin gebildet wurde, ein höherer Anteil an Ferrohämoglobin zur Verfügung, als den Hunden, bei denen 62% des gesamten Hämoglobins zu Ferrihämoglobin oxidiert wurde. Dabei unterscheiden sich die Ferrohämoglobinkonzentrationen signifikant voneinander.

Nach intravenöser Gabe von 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg sinken die Ferrohämoglobinkonzentrationen zeitenweise unter 30%. Nach BODANSKY (9) ist ein Anteil von wenigsten 30 - 40% Ferrohämoglobin zur Aufrechterhaltung der Sauerstoffversorgung der Gewebe notwendig. Diese Minimaltoleranz wird demnach bei Gaben von 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg und wiederholter Injektion mit der halben Anfangsdosis unterschritten, womit den Versuchstieren dann zu wenig Sauerstoff zur Verfügung steht.

Aus diesem Grunde bildeten KIESE und WEGER (54, 55, 56, 57) bisher nur 30% Ferrihämoglobin in blausäurevergifteten Hunden. Sie konnten damit die 3 - 4-fache  $DL_{50}$  (24 mg/kg) an Kaliumcyanid entgiften.

### Ferrihämoglobin

Untersuchungen von KWASENKO (61) bei Katzen ergaben, daß intravenöse Injektion von Natriumcyanid im Gehirn einen 3-4-fach höheren Prozentsatz an Cytochromoxidase gegenüber Leber und Niere blockiert. Eine Hemmung von 70% der gesamten Cytochromoxidase im Gehirn (nach i.v.-Gabe von 2,2 mg

NaCN/kg) war absolut tödlich (61). Wurden nach i.v.-Gabe von 1,7 - 1,8 mg NaCN/kg 40-50% der Cytochromoxidase im Gehirn inaktiviert, konnten alle Versuchstiere ohne therapeutische Maßnahmen überleben (61).

Die Entgiftungswirkung der Ferrihämoglobinbildner beruht auf der höheren Affinität des Cyanids zum  $\text{Fe}^{\text{III}}$  des Ferrihämoglobins, als zum  $\text{Fe}^{\text{III}}$  Cytochromoxidase (8, 11, 22, 90). Da 1 Mol  $\text{HbFe}^{\text{III}}$  4 Mol  $\text{CN}^-$  bindet, müßten steigende Ferrihämoglobinkonzentrationen entsprechend größere Mengen an Cyanid entgiften. Andererseits bedeuten höhere Ferrihämoglobinkonzentrationen - wie schon von BODANSKY (9) beschrieben - eine zusätzliche Belastung für den Organismus blausäurevergifteter Tiere durch entstehenden Sauerstoffmangel in den Geweben.

Nach unseren Versuchen führte ein Absinken der Ferrihämoglobinkonzentrationen unter 10%, während der ersten zwei Stunden nach der Kaliumcyanid-Gabe, zu erneutem Auftreten akuter Vergiftungssymptome. Dieses Phänomen könnte darauf zurückzuführen sein, daß die Resorption von oral verabreichtem Cyanid längere Zeit andauert. Im Mageninhalt einiger daraufhin untersuchter Tiere konnte 30 Minuten nach Versuchsbeginn noch 10 - 20% der verabreichten Cyanidmenge nachgewiesen werden.

Es muß demnach bei der Behandlung blausäurevergifteter Tiere über einen längeren Zeitraum ein gewisses Mindestangebot an Ferrihämoglobin im Blut aufrechterhalten werden.

#### Ferrihämoglobin-Cyanid

Aus den bisherigen Ausführungen stellt sich die Frage, bis zu welcher Höhe Ferrihämoglobinkonzentrationen im Falle einer Blausäurevergiftung zu verantworten sind. Da höhere Ferrihämoglobinkonzentrationen voraussichtlich mehr Cyanid der Cytochromoxidase entziehen, muß die optimale Ferrihämoglobinkonzentration festgestellt werden.

Andererseits gibt es eine Grenze für den sich bildenden Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplex. Es muß nun festgestellt werden, ob mit steigenden Ferrihämoglobinkonzentrationen sich das Maximum des sich bildenden Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplexes ebenfalls erhöht und inwieweit dieser Komplex

keine zusätzliche Noxe für den Organismus bedeutet.

Nach Gabe von 36 mg Kaliumcyanid/kg ist die maximale Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentration signifikant viel höher, wenn 62% des gesamten Blutfarbstoffes zu Ferrihämoglobin oxidiert wurden, als wenn nur die Hälfte des gesamten Blutfarbstoffes in Ferrihämoglobin umgewandelt wurde. Dagegen sind nach einer Vergiftung mit 50 mg Kaliumcyanid/kg keine Unterschiede mehr in der Komplexbildung bezüglich der 4-Dimethylaminophenol-Dosis zu erkennen.

Vermutlich gibt es eine Grenze der Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentration, die gerade noch vom Organismus zu ausscheidungsfähigem Thiocyanat metabolisiert werden kann. Dieser noch unbekannte Grenzwert läßt sich durch zusätzliche Gabe von Schwefel in Form von Thiosulfat beträchtlich steigern.

Es zeigte sich, daß bei keinem der Versuchstiere die gesamte Menge des verabreichten Cyanids vollständig an das gebildete Ferrihämoglobin angelagert wurde (Tab. 21). Nach Gaben von 20 mg  $\text{CN}^-$ /kg (= 50 mg KCN/kg) wurden durchschnittlich 10 mg  $\text{CN}^-$  pro kg nicht an das gebildete Ferrihämoglobin gebunden - eine Dosis, die bei unbehandelten Tieren sicher tödlich wirkt. Dennoch überlebten nach Bildung von 50 bzw. 62% Ferrihämoglobin 28 von 40 Tieren.

Das bedeutet, daß bei der Anwendung von 4-Dimethylaminophenol nicht nur das gebildete Ferrihämoglobin, sondern daß noch andere Mechanismen die Wirkung der Blausäure beeinträchtigen können. Untersuchungen hierüber sind in Vorbereitung (GROSSKURTH, KIESE, WEGER 1973). Es stellte sich heraus, daß das 4-Dimethylaminophenol nicht nur das Ferrohämoglobin zu Ferrihämoglobin oxidiert, sondern daß dieses auch das Myoglobin zu Ferrimyoglobin oxidiert.

Dieses Ferrimyoglobin bindet ebenso wie Ferrihämoglobin einen Teil des Cyanids im Körper blausäurevergifteter Tiere, woraus sich das Überleben der Hunde erklären ließe.

Demnach mußte nicht nur der mit dem Ferrihämoglobin sich bildende Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplex, sondern auch der mit dem Ferrimyoglo-

bin sich bildende Komplex zu ausscheidungsfähigem Thiocyanat metabolisiert werden, wofür genügend Schwefel vom Körper bereitgestellt werden muß.

Wie wichtig die kontinuierliche Metabolisierung des gebildeten Ferrihämoglobin- bzw. Ferrimyoglobin-Cyanid-Komplexes ist, zeigen die Ergebnisse über die maximale Bindung des Cyanids an Ferrihämoglobin bzw. nach entsprechender Umrechnung an Hämoglobin bei überlebenden und gestorbenen Versuchstieren.

Die Tiere, die den Versuch nicht überlebt haben, weisen innerhalb ihrer Versuchsreihe immer einen signifikant höheren Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplex auf, als die Tiere, die die Vergiftung überlebt haben (Abb. 18).

Diese Ergebnisse bestätigen die Annahme, daß der Organismus ein begrenztes Angebot von dem gebildeten Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplex zu Thiocyanat umwandeln kann. Wird diese noch unbekannte Grenze durch zu hohe Komplexbildung überschritten, so entsteht durch nicht abgebauten Komplex eine zusätzliche Belastung zur Cyanidvergiftung. Vermutlich bewirkt diese zusätzliche Noxe ein allmähliches Erliegen der gesamten Körperfunktionen.

Demzufolge hängt ein Überleben einer Kaliumcyanidvergiftung nicht allein von der Ferrihämoglobinbildung und somit von einem raschen Entzug des Cyanids von der Cytochromoxidase ab, sondern in gleichem Maße von der Metabolisierung des sich bildenden Komplexes und der damit verbundenen Entgiftung des Organismus.

#### Zusätzliche Gabe von Natriumthiosulfat

Nach Bildung zu hoher Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentrationen müssen demnach die Metabolisierungsvorgänge zusätzlich unterstützt werden.

Das Cyanid wird mit Hilfe des Enzyms "Rhodanese", das hauptsächlich in den Mitochondrien der Leberzellen vorkommt, zu Thiocyanat ( $\text{SCN}^-$ ) katalysiert ( $\text{S}^{+} + \text{CN}^{-} \longrightarrow \text{SCN}^{-}$ ) (62, 63, 90, 94, 95, 96, 97). Nach Erkenntnis dieser Tatsache wurden Versuche angestellt, Blausäurevergiftungen alleine mit Thiosulfat zu entgiften (63). Es zeigte sich jedoch, daß bei alleiniger Anwendung von Thiosulfat eine zu langsame Wirkung eintrat (28, 110). Dies beruht



auf der viel zu langsamen Penetration des Thiosulfats durch die Zellmembran und der meist extrazellulären Verteilung dessen, bei gleichzeitig schneller renalen Ausscheidung (30, 62, 63, 90, 97).

In Kombination von Thiosulfat mit anderen Antidoten wurden jedoch brauchbare Ergebnisse erzielt (11, 12, 13, 14, 16, 18, 110, 111). So zeigte WEGER (114), daß nach i. v.-Gabe von 2, 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl pro kg und damit gebildeter Ferrihämoglobinkonzentration von 30% bei gleichzeitiger Gabe von Natriumthiosulfat Hunde eine Vergiftung von 120 mg Kaliumcyanid pro kg per os sicher überlebten.

Unsere Untersuchungen zeigten, daß nach Vergiftung mit 50 mg Kaliumcyanid/kg bei Bildung von 62% Ferrihämoglobin 6 Tiere, und nach Bildung von 50% Ferrihämoglobin nur noch 2 von jeweils 10 Tieren überlebten. Demzufolge kann eine Kaliumcyanidvergiftung von 50 mg pro kg und mehr nicht alleine mit Ferrihämoglobinbildnern sicher behandelt werden.

Nach zusätzlicher Gabe von je 500 mg Natriumthiosulfat/kg konnten die oben genannten Ergebnisse zu einer 100%igen Überlebensrate verbessert werden.

a) Es zeigte sich, daß die Hunde diese Kaliumcyanid-Dosis nach Bildung von 50% Ferrihämoglobin und zusätzlicher Gabe von Thiosulfat signifikant viel schneller überwandten, als die Tiere, in denen bei dieser Kombinations-therapie 62% Ferrihämoglobin gebildet worden war ( $p < 0,025$ ).

Vermutlich kann ein mit 50% Ferrihämoglobin sich bildender Komplex vom Organismus auch im Falle der Kombination mit Thiosulfat schneller kompensiert werden, als ein mit 62% sich bildender Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplex. Dies bedeutet für den Organismus eine schnellere Entgiftung und eine damit verbundene kürzere Erholungsphase.

b) Außerdem war der Ferrohämoglobinanteil im Blut der Tiere, in denen 50% Ferrihämoglobin gebildet worden war, zu allen Zeitpunkten signifikant höher, als nach Bildung von 62% Ferrihämoglobin. Dies gibt eine zusätzliche Erklärung für die schnellere Erholung der Tiere, die mit der niedrigeren Ferrihämoglobinkonzentration behandelt wurden.

c) Besonders deutlich tritt bei dieser Kombinationstherapie die unterschiedliche Ferrihämoglobin-Cyanid-Bildung bezüglich der Ferrihämoglobinkonzentration hervor. Der im Blut nachweisbare Komplex steigt mit Erhöhung der Ferrihämoglobinkonzentration entsprechend an, wobei zu allen Zeitpunkten Signifikanz besteht.

Vergleicht man die Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentration nach Gabe von je 50 mg Kaliumcyanid/kg, 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg und 0 bzw. 500 mg Natriumthiosulfat/kg, so zeigt sich, daß dieser bei den Tieren, die zusätzlich Thiosulfat verabreicht bekamen, signifikant viel niedriger bleibt, als bei den Tieren, in denen auch 50% Ferrihämoglobin gebildet wurde, die aber kein Thiosulfat verabreicht bekamen.

Nach Erhöhung der 4-Dimethylaminophenol-Dosis auf 7 mg/kg ist jedoch keine unterschiedliche Komplexbildung mehr festzustellen.

Wird die Metabolisierung des sich bildenden Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplexes durch zusätzliche Gabe von Natriumthiosulfat unterstützt, so zeigt sich, daß das Maximum des Komplexes nur halb so lange im Blut der Tiere nachzuweisen ist, als bei einer Behandlung ohne Thiosulfat. Dieses Ergebnis zeigt, daß eine zusätzliche Gabe von Natriumthiosulfat die Entgiftung um das Doppelte beschleunigt.

Nach einer Vergiftung mit 50 mg Kaliumcyanid/kg und Gabe von 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg und 500 mg Natriumthiosulfat/kg ist die maximale Cyanidbindung signifikant viel niedriger, als bei einer Kombinationstherapie mit 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg (Abb. 19). Da hier in beiden Fällen alle Tiere überlebt haben, die Tiere aber, in denen 50% Ferrihämoglobin gebildet worden war, signifikant viel schneller den Ausgangszustand wieder erreichten und diese Tiere außerdem viel niedrigere Werte in der maximalen Cyanidbindung zeigen, ist die geringere Belastung nach Bildung von Ferrihämoglobinkonzentrationen von 50% klar zu ersehen. Die Umwandlung des Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplexes und die davon abhängige Entgiftung des Organismus kann bei dieser Ferrihämoglobinkonzentration leichter bewältigt werden.



### Optimale Ferrihämoglobinkonzentration

Die Ergebnisse zeigen, daß ein mit 50% Ferrihämoglobin und 50 mg Kaliumcyanid/kg gebildeter Komplex durch zusätzliche Verabreichung von Natriumthiosulfat schneller metabolisiert werden kann, als ohne die unterstützende Wirkung des Natriumthiosulfats. Bei der höheren Komplexbildung mit 62% Ferrihämoglobin kann selbst das zusätzlich verabreichte Thiosulfat dem Organismus durch schnellere Metabolisierung nicht mehr viel nützen, da auch in diesem Fall zu schnell hohe Ferrihämoglobin-Cyanid-Konzentrationen gebildet werden.

Somit wird der Organismus mit einer Therapie von 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg im Falle einer Cyanid-Vergiftung überfordert, da einerseits 62% des gesamten Hämoglobins zu Ferrihämoglobin umgewandelt wird und daher nur noch 38% funktionsfähiges Hämoglobin zur Verfügung stehen, und andererseits durch eine zu hohe Ferrihämoglobin-Cyanid-Bildung eine Entgiftungswirkung von seiten der Enzyme nur langsam erfolgen kann.

Demnach ist es günstiger mit mittleren Ferrihämoglobinkonzentrationen bis zu 50% einen nicht zu hohen Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplex zu bilden, welcher kontinuierlich abgebaut werden kann. Es ist besser, diese mittleren Ferrihämoglobinkonzentrationen durch entsprechend mehrmaliges Injizieren von 4-Dimethylaminophenol aufrechtzuerhalten, als auf einmal hohe Ferrihämoglobinkonzentrationen zu bilden.

Somit ist außer einer schnellen Ferrihämoglobinbildung für den Entzug des Cyanids aus der Bindung mit der Cytochromoxidase, die Bildung eines nicht zu hohen Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplexes und die damit verbundene Möglichkeit des Organismus zur Metabolisierung repräsentativ für eine sichere Entgiftung des Cyanids.

Die sehr schnelle Ferrihämoglobinbildung wird durch 4-Dimethylaminophenol, die Beschleunigung der Rhodanidbildung durch Natriumthiosulfat gewährleistet. Mit einer Bildung von 50% Ferrihämoglobin mittels 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg bei zusätzlicher Verabreichung von Natriumthiosulfat lassen sich somit Blausäurevergiftungen verschiedener Intensität sicher und erfolgreich behandeln.

In all den gezeigten Versuchen wurde deutlich, daß die Bildung von 50% Ferrihämoglobin den mit Blausäure vergifteten Organismus nicht zusätzlich belastet. Einerseits bleibt den Zellen bei dieser Ferrihämoglobinkonzentration noch genügend funktionsfähiges Ferrohämoglobin, andererseits kann der Organismus die notwendige Metabolisierung des sich bildenden Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplexes bewältigen. Eine Bildung von 62% Ferrihämoglobin ist aus zuvor genannten Gründen nicht vertretbar.

Somit ist bei einer Ferrihämoglobinbildung von 50% des gesamten Hämoglobins - bewirkt durch intravenöse Injektion von 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl pro kg - mit einer optimalen Entgiftungswirkung bei blausäurevergifteten Tieren zu rechnen.

## V. ZUSAMMENFASSUNG

An 80 hinsichtlich Rasse, Alter und Geschlecht unterschiedlichen Hunden wurde die Wirkung des Ferrihämoglobinbildners 4-Dimethylaminophenol (2, 5, 5,0 bzw. 7,0 mg/kg, i.v.) nach Gabe verschiedener Dosen (24, 36 bzw. 50 mg/kg per os) von Kaliumcyanid untersucht.

Das Blut der Tiere wurde auf freies Ferrihämoglobin, Ferrohämoglobin und Gesamthämoglobin hin untersucht. Der Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplex wurde aus diesen Parametern abgeleitet.

Die wesentlichen Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. 4-Dimethylaminophenol oxidiert Hämoglobin von Hunden dosisabhängig. Durch intravenöse Gabe von 5 mg/kg werden 50%, durch 7mg/kg 62% Ferrihämoglobin gebildet.
2. Die Oxidation von Hämoglobin durch intravenös verabreichtes 4-Dimethylaminophenol erfolgt äußerst schnell. Bereits nach weniger als einer Minute ist die halbmaximale und nach 10 - 20 Minuten die maximale Ferrihämoglobinkonzentration erreicht.
3. Nach i.v.-Gabe von 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg an blausäurevergiftete Hunde bleibt Ferrohämoglobin in ausreichendem Umfang vorhanden, während den mit 7 mg/kg behandelten Tieren zeitweise weniger als 30% (Minimaltoleranz: 30-40%) zur Verfügung steht.
4. Intravenöse Injektion von 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl pro kg verkürzt die Erholungsphase gegenüber einer Dosis von 7 mg/kg signifikant.
5. Erhöhung der Ferrihämoglobinkonzentration führt in der Regel zu verstärkter Ferrihämoglobin-Cyanid-Komplex-Bildung.
6. Die maximalen Konzentrationen an komplexgebundenem Cyanid sind im Blut gestorbener Hunde gegenüber jenem überlebender signifikant erhöht.

7. Es werden maximal 50 - 80% der verabreichten Cyanidmenge an das gebildete Ferrihämoglobin gebunden.
8. Nach Vergiftung mit 50 mg Kaliumcyanid/kg überlebten bei beiden 4-Dimethylaminophenol-Dosen alle Versuchstiere nur, wenn zusätzlich Natriumthiosulfat verabreicht wurde.
9. Bei Anwendung der mit Natriumthiosulfat kombinierten Therapie erholen sich die mit 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg gegenüber den mit 7 mg/kg behandelten Tiere signifikant schneller.
10. Eine Ferrihämoglobinkonzentration von 50% (durch 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg erreichbar) erweist sich unter den gewählten Versuchsbedingungen zur Therapie blausäurevergifteter Hunde als optimal.

### SUMMARY

The effect of the ferrihemoglobin-former 4-Dimethylaminophenol (injected intravenously in doses of 2,5, 5,0 and 7,0 mg/kg) was studied in 80 dogs varying in race, age and sex. The examinations were carried out after oral doses of potassium cyanide (24, 36 and 50 mg/kg).

The blood of the animals was tested as to the content of free ferrihemoglobin, ferrohemoglobin and total hemoglobin. Ferrihemoglobin cyanide was deduced by the preceding parameters.

The main results are summarized as follows:

1. 4-Dimethylaminophenol creates dose-dependent oxidation of hemoglobin in dogs. After an intravenous injection of 5 mg/kg 50% and after 7 mg/kg 62% ferrihemoglobin is formed.
2. The oxidation of hemoglobin after intravenous application of 4-Dimethylaminophenol is rapid. After a time-lapse of less than one minute ferrihemoglobin concentration is half the maximum, and after 10 - 20 minutes the maximum is reached.
3. After i.v.-injection of 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl per kg to cyanide poisoned animals the level of ferrohemoglobin remains sufficient. Treatment with 7 mg/kg causes temporarily values of less than 30% of ferrohemoglobin (minimum tolerance/ 30-40%).
4. The time needed for recovering after i.v.-injection of 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg is less than that needed after 7 mg/kg.
5. Increase of the concentration of ferrihemoglobin enhances the development of the ferrihemoglobin cyanide complex.
6. Maximum concentrations of complex bound cyanide is significantly higher in the blood of dogs which died than in surviving animals.

7. At the most only 50 - 80% of the applicated cyanide is bound to the formed ferrihemoglobin.
8. All dogs poisoned with 50 mg potassium cyanide/kg survive following intravenous injection of 5 or 7 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg only when in addition sodium thiosulfate is applicated.
9. When combining sodium thiosulfate with 4-Dimethylaminophenol, the animals which received 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg recover faster in relation to those treated with 7 mg/kg.
10. Under chosen conditions a concentration of 50% ferrihemoglobin (achieved by 5 mg 4-Dimethylaminophenol-HCl/kg) is optimal for treatment of cyanide poisoning in dogs.



VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. BANASCHAK, H.  
Exogene Methämoglobinämien  
In: PERLICH, E., W. PLENERT und O. PROKOP  
Fortschritte der Hämatologie I, S. 157  
Leipzig: Barth Verlag, 1971
2. BARTELHEIMER, E.W.  
Analyse der akuten Kobaltvergiftung im Tierversuch  
Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path.Pharmak.  
243, 237, 1962
3. BARTELHEIMER, E.W.  
Unterschiede der toxischen und cyanantagonistischen Wirk-  
samkeit von Kobaltchelate-Verbindungen  
Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path.Pharmak.  
243, 254, 1962
4. BARTELHEIMER, E.W., K.D. FRIEDBERG und L. LENDLE  
Chemische Reaktionsmöglichkeiten von Kobaltverbindungen als  
Voraussetzung ihrer Toxizität und Antidotwirksamkeit  
gegen Blausäure  
Arch.int.pharmakodyn. 199, 99, 1962
5. BASTIAN, G. und H. MERCKER  
Zur Frage der Zweckmäßigkeit der Inhalation von Amylnitrit  
in der Behandlung der Cyanidvergiftung  
Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path.Pharmak.  
237, 285, 1959
6. BEILSTEIN, F.K.  
Handbuch der organischen Chemie, 4. Aufl., 13, S. 442  
Berlin: Springer Verlag, 1930

7. BENTZ, H.  
Nutztiervergiftungen, S. 234 ff.  
Jena: Fischer Verlag, 1969
8. BODANSKY, O.  
Contributions of Medical Research in Chemical Warfare  
to Medicine  
Science, 102, 517, 1945
9. BODANSKY, O.  
Methemoglobinemia and Methemoglobin-Producing Compounds  
Pharmacol. Rev. 3, 144, 1951
10. BUNYEA, H.  
Treatments for Cyanide Poisoning of Sheep and Cattle  
J. Am. vet.med. Ass. 86, 656, 1935
11. CHEN, K. and CH. L. ROSE  
Nitrite and Thiosulfate Therapie in Cyanide Poisoning  
J. Am. med. Ass. 149, 113, 1952
12. CHEN, K. and CH. L. ROSE  
Treatment of acute Cyanide Poisoning  
J. Am. med. Ass. 162, 1154, 1956
13. CHEN, K., CH. L. ROSE and G. CLOWES  
Methylene Blue, Nitrites and Sodium Thiosulfate  
against Cyanide Poisoning  
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 31, 250, 1933
14. CHEN, K., CH. L. ROSE and G. CLOWES  
Potentiation of antidotal Action of Sodium Tetrathionate and Sodium  
Nitrite in Cyanide Poisoning  
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 31, 252, 1933

15. CHEN, K., CH. L. ROSE and G. CLOWES  
Amyle Nitrite and Cyanide Poisoning  
J. Am. med. Ass. 100, 1920, 1933
16. CHEN, K., CH. L. ROSE and G. CLOWES  
Comperative Values of several Antidots in Cyanide Poisoning  
Am. J. med. Sci. 188, 767, 1934
17. CLARARD, G., A. TAPERNOUX et A. MAGAT  
Nouveau cas d'intoxication du betail par des cyanures alcalins  
Bull. Soc. vet. med. Comp. (Lyon) 63, 351, 1961
18. CLEMEDSON, C. J., H. J. HULTMAN and B. SÖRBO  
The Antidote Effect of some Sulfur Compounds and Rhodanese in  
experimental Cyanide Poisoning  
Acta physiol. scand. 32, 245, 1954
19. COLE, C. R.  
Field test for Prussic Acid  
Vet. Med. 49, 300, 1954
20. DAVID, G.  
Rolle des Hydroxocobalamins bei der Therapie und Prophylaxe  
der Cyanidvergiftung (ungarisch)  
Honvédorvos 19, 147, 1967
21. DE DUVE, C., B. C. PRESSMAN, R. GIANETTO, R. WATTIAUX  
and F. APPELMANS  
Tissue Fractionations Studies.  
6. Intracellular Distribution Patterns of Enzymes in Rat-liver Tissue  
Biochem. J. 60, 604, 1955

22. DELGA, J.  
Etude de la méthémoglobinémie provoquée par l'administration  
de quatre substances préconisées dans le traitement d'intoxication  
cyanée  
Ann.pharm.franç. 9, 197, 1953
23. EVANS, C.L.  
Cobalt Compounds as Antidotes for Hydrocyanic Acid  
Br.J.Pharmacol. 23, 455, 1964
24. EYER, P., M.KIESE, G.LIPOWSKY und N.WEGER  
Metabolism of 4-Dimethylaminophenol  
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak.  
270, R 29, 1971
25. EYER, P., M.KIESE und N.WEGER  
The Reaction of 4-Dimethylaminophenol with Hemoglobin  
Naunyn-Schmiedebergs Arch.Pharmak.  
277, R 16, 1973
26. FISCHER, H. und H. MASEL  
Zur protrahierten Zyankaliumvergiftung  
Münch.med.Wschr. 111, 941, 1969
27. FLANDROIS, R., J.R.LACOUR, H.OSMAN et M.A.DANJOU  
Effect ventilatoire de l'injection intraveineuse de NaCN en fonction  
du degré d'oxygénation chez le chien  
Arch.int.pharmacodyn. 177, 435, 1969
28. FLURY, F. und W. HEUBNER  
Über Wirkung und Entgiftung eingeatmeter Blausäure  
Biochem. Z. 95, 249, 1919

29. FORST, A.W.  
Zur Entgiftung der Blausäure  
Habilitationsschrift Med.Fak.Univ.München, 1928
30. FRIEDBERG, K.D., J.GRÜTZMACHER und L.LENDLE  
Die Bedeutung der Wirkungsgeschwindigkeit von Antidoten bei  
der Behandlung der Blausäurevergiftung  
Arch. Toxikol. 22, 176, 1966
31. GERVAIS, P.  
Cyanide Poisoning  
Rev.pract. 13, 1313, 1963
32. GLEASON, M., R.GOSSELIN, H.HODGE and R.SMITH  
Clinical Toxicology of Commercial Products II43  
Baltimore: The Williams & Wilkins CO, 1969
33. GOLDENBERG, M. und D.MANN  
The Antidotal Effectiveness of Sodium Cobaltnitrite in  
Antagonizing Cyanide Poisoning in Albino Mice  
J.Am.pharm.Ass. 49, 210, 1960
34. GORZELEWSKA, K. und T.JUSZKIEWICZ  
Toxikologische Untersuchungen über HCN-Gehalt in  
Sorghum technicum  
Var.Pulawy Med.Weter 17, 147, 1961 (polnisch)
35. HANZLIK, P. und A.P. RICHARDSON  
Cyanide Antidotes  
J.Am.med. Ass. 102, 1740, 1934
36. HAUSTEIN, J., H.CH.GABSCH und K.H.LOHS  
Die Cyanidvergiftung durch DL-Glycerinaldehyd  
Die Pharmazie 24, 482, 1969

37. HEISY, S.R. and J.P.SAUNDERS  
Therapie of Cyanide Poisoning  
Fed.Proc. 15, 435, 1956
38. HEYMANS, C., J.BOUCKAERT et L.DAUTREBANDE  
Sinus Carotidien et Réactions Respiratoires au Cyanure  
C. r. Soc. Biol. 106, 54, 1931
39. HÜBNER, J.  
Zur Pharmakologie des Kobalts mit besonderer Berücksichtigung  
seiner Verwendung bei Blausäurevergiftung  
Arch.int.pharmacodyn. 9, 339, 1901
40. HUG, E.  
L'intoxication par l'acide cyanhydrique. Activité de quelques  
antidotes contre l'acide cyanhydrique administré par voie sous-cutanée  
C. r. Soc. Biol. 111, 519, 1932
41. HUG, E.  
L'intoxication par l'acide cyanhydrique. Les substances  
méthémoglobinisantes comme antidotes de l'intoxication cyanhydrique  
C. r. Soc. Biol. 112, 511, 1933
42. HUG, E.  
Association Nitrite-Hyposulfite de Sonde pour le traitement de  
l'intoxication cyanhydrique chez le chien  
C. r. Soc. Biol. 114, 711, 1933
43. HUG, E.  
Facteurs qui conditionnent la toxicité de l'acide cyanhydrique  
C. r. Soc. Biol. 115, 459, 1933

44. HUG, E.  
L'action combinée de divers antidotes de l'acide cyanhydrique,  
spezialement du nitrite et de l'hyposulfite de soude  
C. r. Soc. Biol. 115, 462, 1933
45. ISSEKUTZ, B. VON  
Studien über Methaemoglobinbildung  
Arch.exp.Path.Pharmak. 193, 551, 1939
46. JACOBS, K.  
Erfahrungsbericht über Anwendung von Kelocyanor<sup>R</sup> bei Blau-  
säurevergiftung (Aus d.werksärztl. Dienstd. Degussa Wesseling)  
Zbl.Arbeitsmed.Arbeitsschutz 21, 372, 1971
47. JANDORF, B.J. and O.BODANSKY  
Therapeutic and Prophylactic Effect of Methemoglobinemia in  
Inhalation Poisoning by Hydrogen Cyanide and Cyanogen Chloride  
J. Industr. Hyg. Toxicol. 28, 125, 1946
48. KIESE, M.  
Drug induced Ferrihemoglobinemia  
Humangenetik 9, 220, 1970
49. KIESE, M. und H.MENZEL  
Hämoglobinbildung im Blute des Menschen nach Einnahme von  
Phenacetin und N-acetyl-p-aminophenol  
Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path.Pharmak.  
242, 511, 1962
50. KIESE, M. und M. PEKIS  
The Reaction of p-Aminophenol with Hemoglobin and Oxygen  
in vivo and in vitro  
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp.Path.Pharmak.  
246, 413, 1964



51. KIESE, M. and M. RACHOR  
The Reaction of several Aminophenols with Hemoglobin and  
Oxygen in vitro and in vivo  
Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path.Pharmak.  
249, 225, 1964
52. KIESE, M., E. RAUSCHER and N. WEGER  
The role of N, N-Dimethylaniline-N-oxide on the Formation of  
Hemoglobin following the Absorption of N, N-Dimethylaniline  
Naunyn-Schmiedebergs Arch.Pharmak.exp.Path.  
254, 253, 1966
53. KIESE, M., J.G. SCHÖBER und N. WEGER  
Versuche am Menschen zur Kinetik der Ferrihämoglobinbildung  
durch Aminophenole und Nitrit  
Naunyn-Schmiedebergs Arch.Pharmak.exp.Path.  
260, 152, 1968
54. KIESE, M. and N. WEGER  
The Treatment of experimental Cyanide Poisoning by  
Hemoglobin Formation  
Arch. Toxikol. 21, 89, 1965
55. KIESE, M. und N. WEGER  
Hämoglobinbildung zur Behandlung der Cyanidvergiftung  
Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path.Pharmak.  
250, 263, 1965
56. KIESE, M. and N. WEGER  
Ferrihemoglobin Formation and Antidotal Action Against  
Experimental Cyanide Poisoning by Substituted Aminophenols  
Intern. Reverat, gehalten auf dem III. Pharmakol. Congr.  
Sao Paulo Nr. 611, 1966

57. KIESE, M. and N.WEGER  
Formation of Ferrihemoglobin with Aminophenols in the Human  
for the Treatment of Cyanide Poisoning  
Europ. J. Pharmacol. 7, 97, 1969
  
58. KLIMMER, O.R.  
Pflanzenschutz und Schädlingsbekämpfungsmittel  
Abriß einer Toxikologie und Therapie von Vergiftungen S. 151 ff  
Hattingen: Hundt Verlag, 1971
  
59. KOBERT, R.  
Über Cyanmethämoglobin und den Nachweis der Blausäure  
Stuttgart: Enke Verlag, 1891
  
60. KRASNEY, J.A.  
Effect of Sino-aortic Denervation on Regional  
Circulatory Responsis to Cyanide  
Am.J.Physiol. 218, 56, 1970
  
61. KWASENKO, O.F.  
Zentrale und periphere Wirkung des Natriumcyanids  
Pharmakol. u. Toxikol. 6, 746, 1962
  
62. LANG, K.  
Die Rhodanidbildung im Tierkörper II  
Biochem.Z. 263, 262, 1933
  
63. LANG, S.  
Studien über Entgiftungstherapie I. Über Entgiftung der  
Blausäure.  
Arch.exp.Path.Pharmak. 36, 75, 1895

64. LEWIN, L.  
Gifte und Vergiftungen S. 497 ff  
Ulm: Haug Verlag, 1962
65. LOHS, K.H.  
Die thermische Blausäureabspaltung aus Polyacrylnitrilfasern  
als mögliche Vergiftungsquelle  
Zbl. Arbeitsmed. 14, 287, 1964
66. MERCKER, H. und G. BASTIAN  
Kobaltverbindungen zur Entgiftung von Blausäure  
Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path.Pharmak.  
236, 449, 1959
67. MEURICE, J.  
Intoxication et desintoxication de différent nitriles par  
l'hyposulfite de soude et les sels méthallique  
Arch.int.pharmacodyn. 7, 11, 1900
68. MOESCHLIN, S.  
Klinik und Therapie der Vergiftungen, 4. Aufl., S.277 ff  
Stuttgart: Thieme Verlag, 1964
69. MORAN, E.A.  
Cyanogenetic Compounds in Plants and their Significance in  
Animal Industry  
Am. J. vet. Res. 15, 171, 1954
70. NEUMÜLLER, O.A. (Ed.)  
RÖMPPS Chemie-Lexikon, 7.Aufl., S. 380 ff  
Stuttgart: Franckh'sche Verlagsbuchhandlung, 1972

71. OFFTERDINGER, H. und N. WEGER  
Kreislauf und Atmung bei Blausäurevergiftung und Therapie  
mit Ferrihämoglobinbildnern und Kobaltverbindungen  
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak.  
264, 289, 1969
72. OSUNTOKUN, B.O., G.L. MONEKOSSO und J. WILSON  
Cassava Diet and a Chronic Degenerative Neuropathy:  
An Epidemiological Study  
Nigerian J. Sci. 3, 3, 1969
73. OSUNTOKUN, B.O.  
Cassava Diet and Cyanide Metabolism in Wistar Rats  
Br. J. Nutr. 24, 797, 1970
74. PAULET, G.  
Sur la valeur du nitrite d'amyle dans le traitement de l'intoxication  
cyanhydrique  
C. r. Soc. Biol. 148, 1009, 1954
75. PAULET, G.  
De l'importance relative de la défaillance cardiaque dans  
l'action létale des cyanures  
Arch. int. Physiol. 63, 328, 1955
76. PAULET, G.  
Valeur des sels organiques de cobalt dans le traitement de  
l'intoxication cyanhydrique  
C. r. Soc. Biol. 151, 1932, 1957
77. PAULET, G.  
Limites de l'action anticyanure du nitrite de sodium  
C. r. Soc. Biol. 153, 426, 1959

78. PAULET, G., X. AUBERTIN, L. LAURENS et J. BAURRELLIER  
De l'action méthémoglobinisant de la paraaminopropiophénone  
chez l'homme, avec un complément expérimental chez le chien  
Arch. int. Pharmacodyn. 142, 35, 1963
79. PAULET, G., R. CHARY, P. BOQUET et M. FOUILLOUX  
Valeur comparée du nitrite de sodium et des chélates de cobalt  
dans le traitement de l'intoxication cyanhydrique chez l'animal  
(chien-lapin) non anesthésié  
Arch. int. Pharmacodyn. 127, 104, 1960
80. PETERSEN, Ch.  
Studien über Methämoglobinbildung  
Arch. exp. Path. Pharmacol. 198, 675, 1941
81. POTTER, A. L.  
The Successful Treatment of Two Recent Cases of Cyanide  
Poisoning  
Br. J. intern. Med. 7, 125, 1950
82. QUEISSER, H.  
Tödliche Vergiftungen durch Genuß süßer Cassava  
Dtsch. Ger. Wesen 21, 726, 1966
83. RADELEFF, R. D.  
Veterinary Toxicology 2nd. ed. p. 50 ff  
Philadelphia: Lea & Febiger, 1970
84. ROSE, CH. L., J. S. WELLERS, R. D. FINK and K. CHEN  
The Antidotal Action of P-Aminopropiophenone with or without  
Sodium Thiosulfate in Cyanide Poisoning  
J. Pharmac. exp. Ther. 89, 109, 1947
85. ROSE, CH. L., R. M. WORTH and K. K. CHEN  
Hydroxo-Cobalamine and acute Cyanide Poisoning in Dogs  
Life Sciences, 4, 1785, 1965

86. ROSENBERGER, G.  
Krankheiten des Rindes, S. 1265 ff  
Berlin und Hamburg: Parey Verlag, 1970
87. SAHLIN, B.  
Über den Antagonismus zwischen Methylenblau und KCN  
scand.Arch.Physiol. 47, 284, 1926
88. SAUNDERS, J.P. and S.R.HEISEY  
Methemoglobin Formation in the Cat in Relation to  
Treatment of Cyanide Intoxication  
Fed.Proc. 15, 479, 1956
89. SCHMID, A.  
Fütterungsschäden durch pflanzliche, chemische und mikrobielle  
Schadstoffe  
Vortrag am 11.6.1971 vor der tierärztlichen Kreisgruppe Kaufbeu-  
ren, Marktoberdorf, Füssen und Landkreis Schongau in Biessen-  
hofen/Kaufbeuren
90. SCHUBERT, J. and W.A.BRILL  
Antagonism of Experimental Cyanide Toxicity in Relation to the  
in vivo Activity of Cytochrome Oxidase  
J.Pharmac.exp.Ther. 162, 352, 1968
91. SCHWARZKOPF, H. und K.D. FRIEDBERG  
Zur Beurteilung der Blausäureantidote  
Arch.Toxicol. 27, 111, 1971
92. SIMKO, S. und V. RAMPÁČEK  
Die erfolgreiche Anwendung von Sauerstoff-Überdruck bei  
Vergiftungsversuchen mit KCN (tschechisch)  
Vojenske Zdravotnícke Listy 17, 148, 1968

93. SMITH, R.  
Cobalt salts: Effects in Cyanide and Sulfide Poisoning  
and on Methemoglobinemia  
Toxicol.appl.Pharmacol. 15, 505, 1969
94. SÖRBO, B.H.  
Crystalline Rhodanese  
Acta chem.scand. 7, 238, 1953
95. SÖRBO, B.H.  
Crystalline Rhodanese I. Purification and physiochemical  
Examination  
Acta chem.scand. 7, 1129, 1953
96. SÖRBO, B.H.  
Crystalline Rhodanese II. The Enzyme catalized Reaction  
Acta chem.scand. 7, 1137, 1953
97. SÖRBO, B.H.  
Enzymatic Conversion of Cyanide to Thiocyanate  
Biochem. Pharmacol.Conf.Issue 6, 121, 1961
98. SPECTOR, W.S.  
Handbook of Toxicology I  
Philadelphia and London: W.B.Saunders Company, 1956
99. STAHL, K.E. und F.JUNG  
Über Blutgiftwirkung des Phenylendiamins und des  
Toluyldiamins  
Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path.Pharmak.  
220, 503, 1953
100. SVEDBERG, S.  
Cyanide Poisoning and Methemoglobinemia  
Acta Pharmacol. 3, 335, 1947



101. SWINYARD, E.A.  
Noxious Gases and Vapors  
In: GOODMAN, L.S. and A.GILMAN (Eds.)  
The Pharmacological Basis of Therapeutics, 3rd.Ed., p.915 ff  
New York: The Macmillan Company 1965
  
102. SZIGETI, H.  
Über Cyanhämatin  
Viertelj.Schr.Ger.Med. 6, 9, 1893
  
103. TAUBERGER, G. und O.R.KLIMMER  
Tierexperimentelle Untersuchungen einiger Kobaltverbindungen  
nach intravenöser Injektion  
Arch.int.pharmacodyn. 143, 219, 1963
  
104. TERBLANCHE, M., J.A.MINNE and T.F.ADELAAR  
Hydrocyanic Acid Poisoning. A Note on the HCN-Content of  
Animal Tissue at Various Stages of Decomposition  
J. South African vet.med.Ass. 35, 503, 1964
  
105. TRUBE-BECKER, E.  
Vergiftung durch bittere Mandeln  
Dtsch.med.Wschr. 19, 945, 1964
  
106. TSCHIERSCHE, B.  
Blausäure und Blausäureglykoside  
Die Pharmazie, 22, 76, 1967
  
107. VOIGT, F.  
Die Wirkung der Cyansäure auf Kreislauf und Nervensystem  
Arch.exp.Path.Pharmak. 164, 215, 1932
  
108. WALLACE, G. and A.RINGER  
The Lowering of Blood-pressure by the Nitrite Group  
J.Am.med.Ass. 53, 1629, 1909

109. WAY, J.L., S.L.GIBBON and M.SHEEHY  
Effect of Oxygen on Cyanide Intoxication I.  
Prophylactic Protection  
J.Pharmac.exp.Ther. 153, 381, 1966
110. WEBER, H.D., K.D.FRIEDBERG und L.LENDLE  
Beurteilung therapeutischer Maßnahmen bei der Blausäurever-  
giftung unter konstanter Cyanidinfusion  
Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path.Pharmak.  
244, 1, 1962
111. WEGER, N.  
Aminophenole als Blausäureantidote  
Arch.Toxicol. 24, 49, 1968
112. WEGER, N.  
Therapie der Blausäurevergiftung  
Med.Mschr. 23, 436, 1969
113. WEGER, N.  
Therapie der Blausäurevergiftung durch  
Ferrihämoglobinbildung  
Fortschr.Med. 87, 1015, 1969
114. WEGER, N.  
Therapie der Blausäurevergiftung durch  
Ferrihämoglobinbildung  
Med.Habilitationsschrift, München, 1969
115. WENDEL, W.  
Methylene Blue and Cyanide Poisoning  
J.Am.med. Ass. 100, 1054, 1933

116. WIRTH, W., G. HECHT und C. GLOXHUBER  
Toxikologie Fibel, S. 143 ff  
Stuttgart: Thieme Verlag, 1967
117. WIRTH, W. und F. G. LÄMMERHIRT  
Zur Frage der Entgiftung der Blausäure  
Biochem. Z. 270, 455, 1934
118. WOLFSIE, J.  
Treatment of Cyanide Poisoning in Industry  
Arch. ind. Hyg. 4, 417, 1951

LEBENS LAUF

- Wiltrut Lörcher : geb. 1.2.1941 in Böblingen
- Eltern : Dr. Ernst Lörcher, Oberstudienrat  
Margot Lörcher, geb. Prestinari, Kunsthändlerin
- 1947 : Eintritt in die Grundschule
- 1951 : Übertritt in das Königin-Charlotte-  
Gymnasium in Stuttgart, Abitur 1960
- 1960 : Praktikum in der Schiller-Apotheke,  
Stuttgart-Vaihingen
- 1962 : Vorexamen in Pharmazie, Stuttgart  
Anschließend einjährige Apotheken-  
tätigkeit in Stuttgart
- 1963 : Immatrikulation an der Universität München  
für das Studium der Veterinärmedizin
- 1965 : Fortführung des veterinärmedizinischen  
Studiums an der Freien Universität Berlin
- 1966 : Weiterführung des Studiums an der  
Universität München
- 1969 : Staatsexamen
- 1969 : Approbation als Tierärztin
- 1970 : Freie Mitarbeiterin am Pharmakologischen  
Institut der Universität München (Med. Fak.)
- 1971 : Verwalterin der Dienstgeschäfte eines wissen-  
schaftlichen Assistenten am Institut für Phar-  
makologie, Toxikologie und Pharmazie der  
Universität München (Vet. med. Fak.)

Herrn Prof. Dr. M. Kiese , dem Leiter des Pharmakologischen Instituts der Medizinischen Fakultät der Universität München, danke ich für die Überlassung des Themas und die guten Arbeitsbedingungen am Institut.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Privatdozent Dr. med. habil. N. Weger für die jederzeit gern gewährte Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Für zusätzliche Anleitung bei der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse und Abfassung der Dissertationsschrift danke ich außerdem Herrn Prof. Dr. A. Schmid , Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie der Tierärztlichen Fakultät der Universität München.









